

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公 告 特 許 公 報 (A)

(ii)特許出願公開番号

特開平8-104683

(43)公開日 平成8年(1996)4月23日

(51) Int.Cl.⁶ 認別記号 序内整理番号 F I 技術表示箇所
C 0 7 D 303/48
A 6 1 K 31/335 A E D
31/405 A B J
C 0 7 D 405/12 2 0 9
// C 1 2 P 17/02 7432-4B

審査請求 未請求 請求項の数30 OL (全 66 頁) 最終頁に統ぐ

(21)出願番号	特願平6-265686	(71)出願人	000002934 武田薬品工業株式会社 大阪府大阪市中央区道修町四丁目1番1号
(22)出願日	平成6年(1994)10月28日	(72)発明者	坪谷 重利 兵庫県川西市多田院2丁目23番5号
(31)優先権主張番号	特願平5-272806	(72)発明者	瀧澤 正之 兵庫県神戸市灘区篠原伯母野山町1丁目1番1-709号
(32)優先日	平5(1993)10月29日	(72)発明者	白崎 幹雄 兵庫県西宮市南甲子園3丁目1番6-101号
(33)優先権主張国	日本(JP)	(74)代理人	弁理士 朝日奈 忠夫 (外2名)
(31)優先権主張番号	特願平5-272835		
(32)優先日	平5(1993)10月29日		
(33)優先権主張国	日本(JP)		
(31)優先権主張番号	特願平6-186165		
(32)優先日	平6(1994)8月8日		
(33)優先権主張国	日本(JP)		

最終頁に統ぐ

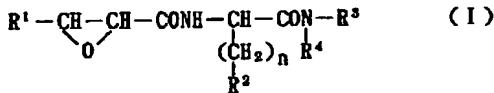
(54) 【発明の名称】 エポキシコハク酸誘導体

(57) 【要約】

【目的】チオールプロテアーゼ阻害剤、骨疾患の予防および治療剤として有用な化合物の提供。

【構成】 一般式

【化 1】



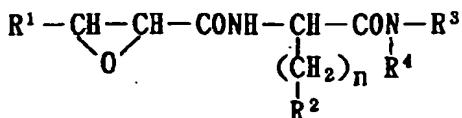
〔式中、R'はエステル化またはアミド化されていてもよいカルボキシル基を、R²は置換基を有していてもよい環式基または極性基を、nは0から6までの整数を、R³は水素または置換基を有していてもよい炭化水素残基を、R⁴は(1)保護されていてもよいアミノ基で置換された炭化水素残基または(2)アルケニル基を示し、R⁵とR⁶とはこれらが結合する窒素原子と共に少なくとも2個のヘテロ原子を含有する複素環基を形成してもよい〕で表される化合物またはその塩。

【効果】本発明によれば、チオールプロテアーゼ阻害剤、骨疾患の予防および治療剤として有用な化合物が提供される。

【特許請求の範囲】

【請求項1】一般式

【化1】



[式中、R¹はエステル化またはアミド化されていてもよいカルボキシル基を、R²は置換基を有していてもよい環式基または極性基を、nは0から6までの整数を、R³は水素または置換基を有していてもよい炭化水素残基を、R⁴は(1)保護されていてもよいアミノ基で置換された炭化水素残基または(2)アルケニル基を示し、R¹とR²とはこれらが結合する窒素原子と共に少なくとも2個のヘテロ原子を含有する複素環基を形成してもよい]で表される化合物またはその塩。

【請求項2】R¹がエステル化されていてもよいカルボキシル基である請求項1記載の化合物。

【請求項3】R¹がカルボキシル基である請求項1記載の化合物。

【請求項4】R²が置換基を有していてもよい環式基である請求項1記載の化合物。

【請求項5】環式基がアリール基である請求項4記載の化合物。

【請求項6】アリール基が炭素数6ないし14のアリール基である請求項5記載の化合物。

【請求項7】R²で表される炭化水素残基がアルキル基である請求項1記載の化合物。

【請求項8】R²がアミノアルキル基である請求項1記載の化合物。

【請求項9】R¹とR²とはこれらが結合する窒素原子と共に少なくとも2個のヘテロ原子を含有する複素環基を形成する請求項1記載の化合物。

【請求項10】複素環基が6員複素環基である請求項9記載の化合物。

【請求項11】化合物がN-[N-[(2S,3S)-3-トランス-カルボキシオキシラン-2-カルボニル]-L-フェニルアラニル]-1,4-ジアミノブタンである請求項1記載の化合物。

【請求項12】化合物がN-[N-[(2S,3S)-3-トランス-エトキシカルボニルオキシラン-2-カルボニル]-L-フェニルアラニル]-1,4-ジアミノブタンである請求項1記載の化合物。

【請求項13】化合物がN-[N-[(2S,3S)-3-トランス-エトキシカルボニルオキシラン-2-カルボニル]-L-フェニルアラニル]モルホリンである請求項1記載の化合物。

【請求項14】化合物がN-[N-[(2S,3S)-3-トランス-カルボキシオキシラン-2-カルボニル]-L-フェニルアラニル]モルホリンである請求項1記載の化合物。

【請求項15】化合物がN-[N-[(2S,3S)-3-トランス-エトキシカルボニルオキシラン-2-カルボニル]-L-チロシ

ル]モルホリンである請求項1記載の化合物。

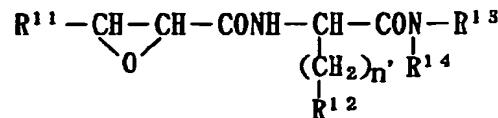
【請求項16】化合物がN-[N-[(2S,3S)-3-トランス-カルボキシオキシラン-2-カルボニル]-L-チロシル]モルホリンである請求項1記載の化合物。

【請求項17】化合物がN-[N-[(2S,3S)-3-トランス-エトキシカルボニルオキシラン-2-カルボニル]-3-(2-ナフチル)-L-アラニル]モルホリンである請求項1記載の化合物。

【請求項18】化合物がN-[N-[(2S,3S)-3-トランス-カルボキシオキシラン-2-カルボニル]-3-(2-ナフチル)-L-アラニル]モルホリンである請求項1記載の化合物。

【請求項19】一般式

【化2】



[式中、R¹¹はエステル化またはアミド化されていてもよいカルボキシル基を、R¹²は置換基を有していてもよい多環式芳香環基を、n'は0から6までの整数を、R¹³およびR¹⁴は水素またはアルキル基を示す]で表される化合物またはその塩。

【請求項20】R¹¹がエステル化されていてもよいカルボキシル基である請求項19記載の化合物。

【請求項21】多環式芳香環基が炭素数8ないし12の2環性芳香環基である請求項19記載の化合物。

【請求項22】化合物がN-[N-[(2S,3S)-3-トランス-エトキシカルボニルオキシラン-2-カルボニル]-3-(2-ナフチル)-L-アラニル]-1-アミノ-3-メチルブタンである請求項19記載の化合物。

【請求項23】化合物がN-[N-[(2S,3S)-3-トランス-カルボキシオキシラン-2-カルボニル]-3-(2-ナフチル)-L-アラニル]-1-アミノ-3-メチルブタンである請求項19記載の化合物。

【請求項24】一般式

【化3】



【40】[式中、R²¹はエステル化またはアミド化されていてもよいカルボキシル基を、R²²はアルキル基を、R²³およびR²⁴は同一または異なる保護されていてもよいアミノ基で置換されたアルキル基を示す]で表される化合物またはその塩。

【請求項25】R²¹がカルボキシル基である請求項24記載の化合物。

【請求項26】R²¹が炭素数3ないし5のアルキル基である請求項24記載の化合物。

【請求項27】R²¹およびR²²がアミノアルキル基である請求項24記載の化合物。

【請求項28】請求項1, 19または24記載の化合物を含有してなるチオールプロテアーゼ阻害剤。

【請求項29】請求項1, 19または24記載の化合物を含有してなる骨疾患の予防および治療剤。

【請求項30】骨疾患が骨粗鬆症である請求項29記載の予防および治療剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

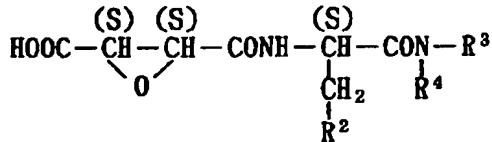
【産業上の利用分野】本発明は、カテプシンLおよびB等のチオールプロテアーゼ阻害作用を有し、骨粗鬆症等の骨疾患の予防および治療剤として有用な新規エポキシコハク酸誘導体に関する。

【0002】

【従来の技術】骨組織では骨吸収と骨形成がバランスを保ちながら常に繰り返され、骨の恒常性が維持されており、骨粗鬆症などの骨疾患は、このバランスが骨吸収側に傾くことによって引き起こされる。近年、骨疾患の予防・治療作用を有するエポキシ化合物が報告されている（特開昭62-76号、ヨーロッパ特許公開269311号）。以下、本明細書において、アミノ酸、ペプチド等に関し、略号で表示する場合、IUPAC-IUBコミッショナ・オン・バイオケミカル・ノメンクレーティヤー（Commission on Biochemical Nomenclature）による略号あるいは当該分野における慣用略号に基づくものとし、また、アミノ酸に光学異性体があり得る場合特に明示しなければし体を示すものとする。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】現在、骨粗鬆症の予防 *



化合物	R ²	R ³	R ⁴
TAN-1756A	- 	H	(CH ₂) ₄ -NH ₂
TAN-1756B	- 	H	(CH ₂) ₄ -NH ₂
TAN-1854A	- 	(CH ₂) ₃ NH ₂	(CH ₂) ₄ -NH ₂
TAN-1854B	- 	(CH ₂) ₃ NH ₂	(CH ₂) ₄ -NH ₂
TAN-1756C	- 	H	(CH ₂) ₄ NH(CH ₂) ₃ NH ₂
TAN-1756D	- 	H	(CH ₂) ₃ NH(CH ₂) ₄ NH ₂

【化5】

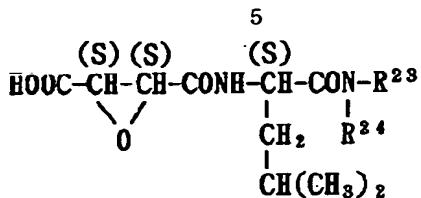
* 及び治療にはエストロゲン剤、カルシトニン等の骨吸収抑制物質が用いられている。しかし、これらの薬剤は破骨細胞のリソゾームから分泌されるチオールプロテアーゼに対する阻害作用はなく、また、これらの治療薬を投与する場合、投与対象が限定されたり、効果が不確実である場合もあり、十分な効果が得られていない。

【0004】

【課題を解決するための手段】本発明者らは上述した状況に鑑み、チオールプロテアーゼ、その中でも最近、骨吸収に主な役割を果たしていることが明らかになりつつあるカテプシンL [エイチ・カケガワ (H. Kakegawa) ら、フェブス・レターズ (FEBS Letters)、321巻、247頁 (1993)] に着目し、このカテプシンLを選択的に阻害する薬剤を見い出しが出来るならば、骨粗鬆症などの骨疾患の予防および治療剤が得られると確信し、その起源を微生物代謝産物の中に求めた。鋭意探索の結果、下記式で示されるTAN-1756A, B, CおよびDをケトミウム (Chaetomium) 属に属する微生物から、TAN-1854AおよびBをトリポクラディウム (Tolyphocladium) 属に属する微生物から、TAN-1803を、またトリコデルマ (Trichoderma) 属に属する微生物から、TAN-1868をアスペルギルス (Aspergillus) 属に属する微生物から見いだした。また、本発明者らはこれらの化合物の合成法も確立した。さらに、本発明者らはこれらの知見に基づいて、エポキシコハク酸誘導体の研究を重ね、本発明を完成した。

【0005】

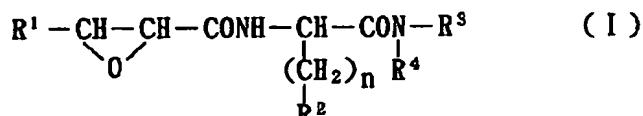
【化4】



6
当該記号の付された炭素原子がS配位であるこ
}

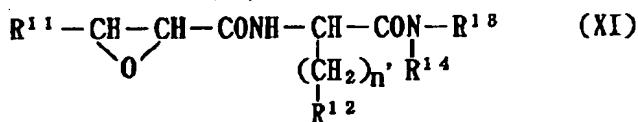
【0006】 すなわち本発明は、(1) 一般式
【化6】

化合物	R ²³	R ²⁴
TAN-1803	-(CH ₂) ₃ NH ₂	-(CH ₂) ₄ NH ₂
TAN-1868	H	-(CH ₂) ₅ NHCOCH ₃



〔式中、R'はエステル化またはアミド化されていてもよいカルボキシル基を、R²は置換基を有していてもよい環式基または極性基を、nは0から6までの整数を、R³は水素または置換基を有していてもよい炭化水素残基を、R⁴は（1）保護されていてもよいアミノ基で置換された炭化水素残基または（2）アルケニル基を示し、R³とR⁴とはこれらが結合する窒素原子と共に少なくとも2個のヘテロ原子を含有する複素環基を形成してもよい〕で表される化合物またはその塩、（2）R¹がエステル化されていてもよいカルボキシル基である上記（1）記載の化合物、（3）R¹がカルボキシル基である上記（1）記載の化合物、（4）R²が置換基を有していてもよい環式基である上記（1）記載の化合物、（5）環式基がアリール基である上記（4）記載の化合物、（6）アリール基が炭素数6ないし14のアリール基である上記（5）記載の化合物、（7）R³で表される炭化水素残基がアルキル基である上記（1）記載の化合物、（8）R⁴がアミノアルキル基である上記（1）記載の化合物、（9）R³とR⁴とはこれらが結合する窒素原子と共に少なくとも2個のヘテロ原子を含有する複素環基を形成する上記（1）記載の化合物、（10）複素環基が6員複素環基である上記（9）記載の化合物、（11）化合物がN-[N-[(2S,3S)-3-トランス-カルボキシオキシラン-2-カルボニル]-1-フェニルアラニル]-1-4

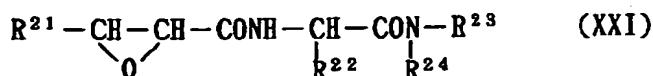
*-ジアミノブタンである上記（1）記載の化合物、（1）化合物がN-[N-[(2S, 3S)-3-トランス-エトキシカルボニルオキシラン-2-カルボニル]-L-フェニルアラニル]-1, 4-ジアミノブタンである上記（1）記載の化合物、
20 （13）化合物がN-[N-[(2S, 3S)-3-トランス-エトキシカルボニルオキシラン-2-カルボニル]-L-フェニルアラニル]モルホリンである上記（1）記載の化合物、（1）化合物がN-[N-[(2S, 3S)-3-トランス-カルボキシオキシラン-2-カルボニル]-L-フェニルアラニル]モルホリンである上記（1）記載の化合物、（15）化合物がN-[N-[(2S, 3S)-3-トランス-エトキシカルボニルオキシラン-2-カルボニル]-L-チロシル]モルホリンである上記（1）記載の化合物、（16）化合物がN-[N-[(2S, 3S)-3-トランス-カルボキシオキシラン-2-カルボニル]-L-チロシル]モルホリンである上記（1）記載の化合物、
30 （17）化合物がN-[N-[(2S, 3S)-3-トランス-エトキシカルボニルオキシラン-2-カルボニル]-3-(2-ナフチル)-L-アラニル]モルホリンである上記（1）記載の化合物、（18）化合物がN-[N-[(2S, 3S)-3-トランス-カルボキシオキシラン-2-カルボニル]-3-(2-ナフチル)-L-アラニル]モルホリンである上記（1）記載の化合物、
（19）一般式



〔式中、R"はエステル化またはアミド化されていてもよいカルボキシル基を、R'は置換基を有していてもよい多環式芳香環基を、n'は0から6までの整数を、R"およびR'は水素またはアルキル基を示す〕で表される化合物またはその塩、(20) R"がエステル化されていてもよいカルボキシル基である上記(19)記載の化合物、(21)多環式芳香環基が炭素数8ないし12

※の2環性芳香環基である上記(19)記載の化合物、
 (22) 化合物がN-[$(2S, 3S)$ -3-トランス-エトキシカルボニルオキシラン-2-カルボニル]-3-(2-ナフチル)-L-アラニル]-1-アミノ-3-メチルブタンである上記(19)記載の化合物、(23) 化合物がN-[$(2S, 3S)$ -3-トランス-カルボキシオキシラン-2-カルボニル]-3-(2-ナフチル)-L-アラニル]-1-アミノ-3-メチルブタンである

る上記(19)記載の化合物、(24)一般式



〔式中、 R^{21} はエステル化またはアミド化されていてもよいカルボキシル基を、 R^{22} はアルキル基を、 R^{23} および R^{24} は同一または異なって保護されていてもよいアミノ基で置換されたアルキル基を示す〕で表される化合物またはその塩、(25) R^{21} がカルボキシル基である上記(24)記載の化合物、(26) R^{21} が炭素数3ないし5のアルキル基である上記(24)記載の化合物、(27) R^{21} および R^{22} がアミノアルキル基である上記(24)記載の化合物、(28) 上記(1)、(19)または(24)記載の化合物を含有してなるチオールプロテアーゼ阻害剤、(29) 上記(1)、(19)または(24)記載の化合物を含有してなる骨疾患の予防および治療剤、および(30) 骨疾患が骨粗鬆症である上記(29)記載の予防および治療剤、に関する。

【0007】一般式(I)において、 R^1 で表されるエステル化されていてもよいカルボキシル基としては、例えば薬理学的に享受しうるもの、あるいは生体内においてはじめて薬理学的に享受しうるものに変化するものが用いられる。エステル化されたカルボキシル基は、好ましくは、式 $-\text{COOR}^6$ で表される。ここにおいて、 R^6 は、例えば(1)(a)ニトロ基、(b)ハロゲン(例、臭素、塩素、フッ素等)、(c)炭素数2ないし6のアルカノイルオキシ基(例、アセチルオキシ、プロピオニルオキシ、イソプロピオニルオキシ、ブチリルオキシ、イソブチリルオキシ、パレリルオキシ、イソパレリルオキシ、ビバロイルオキシ、ヘキサノイルオキシ等)等から選ばれる1ないし3個の置換基を有していてもよい炭素数1ないし6のアルキル基(例、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、sec-ブチル、tert-ブチル、ペンチル、イソペンチル、sec-ペンチル、ネオペンチル、tert-ペンチル、ヘキシル等)である。 R^6 は、さらに好ましくは炭素数1ないし6のアルキル基(例、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、sec-ブチル、tert-ブチル、ペンチル、イソペンチル、sec-ペンチル、ネオペンチル、tert-ペンチル、ヘキシル等)である。

【0008】一般式(I)において、 R^1 で表されるアミド化されていてもよいカルボキシル基としては、例えば薬理学的に享受しうるもの、あるいは生体内においてはじめて薬理学的に享受しうるものに変化するものが用いられる。アミド化されたカルボキシル基は、好ましくは、式 $-\text{CONHR}^6$ で表される。ここにおいて、 R^6 は、例えば(1)水素、(2)(a)ニトロ基、(b)ハロゲン(例、臭素、塩素、フッ素等)等から選ばれる1ないし3個の置換基を有していてもよい炭素数1ないし6のアルキル基(例、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、sec-ブチル、tert-ブチル、ペンチル、イソペンチル、sec-ペンチル、ネオペンチル、tert-ペンチル、ヘキシル等)である。

【0009】一般式(I)において、 R^1 で表されるアミド化されていてもよいカルボキシル基としては、例えば薬理学的に享受しうるもの、あるいは生体内においてはじめて薬理学的に享受しうるものに変化するものが用いられる。アミド化されたカルボキシル基は、好ましくは、式 $-\text{CONHR}^6$ で表される。ここにおいて、 R^6 は、例えは(1)水素、(2)(a)ニトロ基、(b)ハロゲン(例、臭素、塩素、フッ素等)等から選ばれる1ないし3個の置換基を有していてもよい炭素数1ないし6のアルキル基(例、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、sec-ブチル、tert-ブチル、ペンチル、イソペンチル、sec-ペンチル、ネオペンチル、tert-ペンチル、ヘキシル等)である。

(3)(a)ニトロ基、(b)ハロゲン(例、臭素、塩素、フッ素等)、(c)炭素数1ないし4のアルコキシ基(例、メトキシ、エトキシ、プロポキシ、イソプロポキシ、ブトキシ、イソブトキシ、sec-ブトキシ、tert-ブトキシ等)から選ばれる1ないし3個の置換基を有していてもよい炭素数6ないし14のアリール基(例、フェニル、ナフチル等)、(4)(a)ニトロ基、(b)ハロゲン(例、臭素、塩素、フッ素等)、(c)炭素数1ないし4のアルコキシ基(例、メトキシ、エトキシ、プロポキシ、イソプロポキシ、ブトキシ、イソブトキシ、sec-ブトキシ、tert-ブトキシ等)から選ばれる1ないし3個の置換基を有していてもよい炭素数7ないし12のアラルキル基(例、ベンジル、フェニチル等)等を示す。 R^6 は、好ましくは(a)ニトロ基、(b)ハロゲン(例、臭素、塩素、フッ素等)等から選ばれる1ないし3個の置換基を有していてもよい炭素数1ないし6のアルキル基(例、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、sec-ブチル、tert-ブチル、ペンチル、イソペンチル、sec-ペンチル、ネオペンチル、tert-ペンチル、ヘキシル等)である。

ある。R⁶は、さらに好ましくは炭素数1ないし6のアルキル基（例、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、sec-ブチル、tert-ブチル、ペンチル、イソペンチル、sec-ペンチル、ネオペンチル、tert-ペンチル、ヘキシル等）である。

【0009】一般式（I）において、R¹は、好ましくはエステル化されていてもよいカルボキシル基である。R¹は、さらに好ましくは炭素数1ないし6のアルキル基（例、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、sec-ブチル、tert-ブチル、ペンチル、イソペンチル、sec-ペンチル、ネオペンチル、tert-ペンチル、ヘキシル等）でエステル化されていてもよいカルボキシル基である。

【0010】一般式（I）において、R²で表される置換基を有していてもよい環式基における環式基としては、例えば（1）炭素数3ないし8のシクロアルキル基（例、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル等）、（2）炭素数3ないし8のシクロアルケニル基（例、シクロプロペニル、1-シクロペニル、2-シクロペンテニル、3-シクロペンテニル、1-シクロヘキセニル、2-シクロヘキセニル、3-シクロヘキセニル等）、（3）炭素数6ないし14のアリール基（例、フェニル、1-または2-ナフチル、1-、2-または9-アントリル、1-、2-、3-、4-または9-フェナントリル、1-、2-、4-、5-または6-アズレニル等）、（4）炭素原子以外に酸素、硫黄、窒素等から選ばれるヘテロ原子を1ないし4個含む5ないし6員複素環またはその縮合複素環基（例、2-または3-チエニル、2-または3-フリル、2-または3-ピロリル、3-、4-または5-ピラゾリル、2-、4-または5-チアゾリル、3-、4-または5-イソチアゾリル、2-、4-または5-オキサゾリル、3-、4-または5-イソオキサゾリル、2-、4-または5-イミダゾリル、1, 2, 3-または1, 2, 4-トリアゾリル、1Hまたは2H-テトラゾリル、2-、3-または4-ピリジル、2-、4-または5-ピリミジル、3-または4-ピリダジニル、キノリル、イソキノリル、インドリル等）等が用いられる。これらの中で、炭素数6ないし14のアリール基（例、フェニル、1-または2-ナフチル、1-、2-または9-アントリル、1-、2-、3-、4-または9-フェナントリル、1-、2-、4-、5-または6-アズレニル等）、炭素原子以外に酸素、硫黄、窒素等から選ばれるヘテロ原子を1ないし4個含む5ないし6員複素環またはその縮合複素環基（例、2-または3-チエニル、2-または3-フリル、2-または3-インドリル、2-、4-または5-イミダゾリル等）が好ましい。環式基は、さらに好ましくは炭素数6ないし14のアリール基（例、フェニル、1-または2-ナフチル、1-、2-または9-アントリル、1-

1-、2-、3-、4-または9-フェナントリル、1-、2-、4-、5-または6-アズレニル等）である。環式基は、特に好ましくは炭素数6ないし10のアリール基（例、フェニル、1-または2-ナフチル等）である。

【0011】上述の環式基は、置換可能な位置に、例えば（1）（a）ニトロ基、（b）ハロゲン（例、臭素、塩素、フッ素等）等から選ばれる1ないし3個の置換基を有していてもよい炭素数1ないし15のアルキル基（例、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、sec-ブチル、tert-ブチル、ペンチル、イソペンチル、sec-ペンチル、ネオペンチル、tert-ペンチル、ヘキシル、ヘプチル、オクチル、ノニル、デシル、ウンデシル、ドデシル、トリデシル、テトラデシル、ペンタデシル等）、（2）炭素数3ないし10のシクロアルキル基（例、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル等）、（3）（a）ニトロ基、（b）ハロゲン（例、臭素、塩素、フッ素等）等から選ばれる1ないし3個の置換基を有していてもよい炭素数2ないし10のアルケニル基（例、ビニル、アリル、2-メチルアリル、2-ブテニル、3-ブテニル、3-オクテニル等）、（4）炭素数2ないし10のアルキニル基（例、エチニル、2-プロピニル、3-ヘキシニル等）、（5）炭素数3ないし10のシクロアルケニル基（例、シクロプロペニル、シクロペンテニル、シクロヘキセニル等）、（6）炭素数6ないし10のアリール基（例、フェニル、ナフチル等）、（7）炭素数7ないし12のアラルキル基（例、ベンジル、フェネチル等）、（8）ニトロ基、（9）水酸基、（10）メルカプト基、（11）オキソ基、（12）チオキソ基、（13）シアノ基、（14）カルバモイル基、（15）カルボキシル基、（16）炭素数2ないし5のアルコキシカルボニル基（例、メトキシカルボニル、エトキシカルボニル等）、（17）炭素数7ないし11のアリールオキシカルボニル基（例、フェノキシカルボニル等）、（18）炭素数8ないし13のアラルキルオキシカルボニル基（例、ベンジルオキシカルボニル、フェネチルオキシカルボニル等）、（19）スルホ基、（20）ハロゲン（例、フッ素、塩素、臭素、ヨウ素）、（21）炭素数1ないし4のアルコキシ基（例、メトキシ、エトキシ、プロポキシ、イソプロポキシ、ブトキシ、イソブトキシ、sec-ブトキシ、tert-ブトキシ等）、（22）炭素数6ないし10のアリールオキシ基（例、フェノキシ等）、（23）炭素数7ないし12のアラルキルオキシ基（例、ベンジルオキシ、フェネチルオキシ等）、（24）炭素数1ないし6のアルカノイルオキシ基（例、ホルミルオキシ、アセチルオキシ、プロピオニルオキシ、イソプロピオニルオキシ、ブチリルオキシ、イソブチリルオキシ、バレリルオキシ、イソバレリルオキシ、ピバロイルオキシ、ヘキサノイルオキシ等）、（25）炭素数7ないし11のアリールカルボニルオキシ基（例、ベンゾイルオキシ、p-トルオイルオキ

シ、1-ナフトイルオキシ、2-ナフトイルオキシ等)、(26)炭素数1ないし4のアルキルチオ基(例、メチルチオ、エチルチオ、n-プロピルチオ、イソプロピルチオ、n-ブチルチオ、tert-ブチルチオ等)、(27)炭素数6ないし10のアリールチオ基(例、フェニルチオ、ナフチルチオ等)、(28)炭素数1ないし6のアルキルスルフィニル基(例、メチルスルフィニル、エチルスルフィニル、プロピルスルフィニル等)、(29)炭素数6ないし10のアリールスルフィニル基(例、フェニルスルフィニル等)、(30)炭素数1ないし6のアルキルスルホニル基(例、メチルスルホニル、エチルスルホニル、プロピルスルホニル等)、(31)炭素数6ないし10のアリールスルホニル基(例、フェニルスルホニル、トシリ等)、(32)アミノ基、(33)炭素数1ないし6のアルカノイルアミノ基(例、アセチルアミノ、プロピオニルアミノ等)、(34)モノ-またはジ-C₁₋₄アルキルアミノ基(例、メチルアミノ、エチルアミノ、n-プロピルアミノ、イソプロピルアミノ、n-ブチルアミノ、ジメチルアミノ、ジエチルアミノ等)、(35)炭素数3ないし8のシクロアルキルアミノ基(例、シクロプロピルアミノ、シクロブチルアミノ、シクロペンチルアミノ、シクロヘキシリルアミノ等)、(36)炭素数6ないし10のアリールアミノ基(例、アニリノ等)、(37)炭素数7ないし11のアリールカルボニルアミノ基(例、ベンゾイルアミノ、p-トルオイルアミノ、1-ナフトイルアミノ、2-ナフトイルアミノ等)、(38)炭素数2ないし5のアルコキシカルボニルアミノ基(例、メトキシカルボニルアミノ、エトキシカルボニルアミノ、tert-ブトキシカルボニルアミノ等)、(39)炭素数8ないし13のアラルキルオキシカルボニルアミノ基(例、ベンジルオキシカルボニルアミノ、フェネチルオキシカルボニルアミノ等)、(40)炭素数1ないし6のアルキルスルホニルアミノ基(例、メチルスルホニルアミノ、エチルスルホニルアミノ、プロピルスルホニルアミノ等)、(41)炭素数6ないし10のアリールスルホニルアミノ基(例、フェニルスルホニルアミノ、トシリアミノ等)、(42)モノ-またはジ-C₁₋₄アルキルカルバモイル基(例、メチルカルバモイル、エチルカルバモイル、n-プロピルカルバモイル、イソプロピルカルバモイル、n-ブチルカルバモイル、ジメチルカルバモイル、ジエチルカルバモイル等)、(43)炭素数1ないし6のアルカノイル基(例、ホルミル、アセチル、プロピオニル、イソプロピオニル、ブチリル、イソブチリル、バレリル、イソバレリル、ピバロイル、ヘキサノイルオキシ等)、(44)炭素数7ないし11のアリールカルボニル基(例、ベンゾイル、p-トルオイル、1-ナフトイル、2-ナフトイル等)、(45)炭素数8ないし13のアラルキルカルボニル基(例、ベンジルカルボニル、フェネチルカルボニル等)、及び(46)炭素原子以外に酸素、硫黄、窒素等から選ばれるヘテロ原子を1ないし4個含む5ないし6員複素環またはその縮

合複素環基(例、2-または3-チエニル、2-または3-フリル、2-または3-ピロリル、3-、4-または5-ピラゾリル、2-、4-または5-チアゾリル、3-、4-または5-イソチアゾリル、2-、4-または5-オキサゾリル、3-、4-または5-イソオキサゾリル、2-、4-または5-イミダゾリル、1,2,3-または1,2,4-トリアゾリル、1Hまたは2H-テトラゾリル、2-、3-または4-ピリジル、2-、4-または5-ピリミジル、3-または4-ピリダジニル、キノリル、イソキノリル、インドリル等)等から選ばれる1ないし5個の置換基を有していてもよい。

【0012】一般式(I)において、R²で表される極性基としては、例えば(1)ニトロ基、(2)水酸基、(3)オキソ基、(4)チオキソ基、(5)シアノ基、(6)カルバモイル基、(7)カルボキシル基、(8)炭素数2ないし5のアルコキシカルボニル基(例、メトキシカルボニル、エトキシカルボニル等)、(9)炭素数8ないし13のアラルキルオキシカルボニル基(例、ベンジルオキシカルボニル、フェネチルオキシカルボニル等)、(10)炭素数7ないし11のアリールオキシカルボニル基(例、フェノキシカルボニル等)、(11)スルホ基、(12)メルカプト基、(13)炭素数1ないし4のアルコキシ基(例、メトキシ、エトキシ、プロポキシ、イソプロポキシ、ブトキシ、イソブトキシ、sec-ブトキシ、tert-ブトキシ等)、(14)炭素数6ないし10のアリールオキシ基(例、フェノキシ等)、(15)炭素数7ないし12のアラルキルオキシ基(例、ベンジルオキシ、フェネチルオキシ等)、(16)炭素数1ないし6のアルカノイルオキシ基(例、ホルミルオキシ、アセチルオキシ、プロピオニルオキシ、イソプロピオニルオキシ、エチルカルバモイル、エトキシカルバモイル、イソバレリルオキシ、ピバロイルオキシ、ヘキサノイルオキシ等)、(17)炭素数7ないし11のアリールカルボニルオキシ基(例、ベンゾイルオキシ、p-トルオイルオキシ、1-ナフトイルオキシ、2-ナフトイルオキシ等)、(18)炭素数1ないし4のアルキルチオ基(例、メチルチオ、エチルチオ、n-プロピルチオ、イソプロピルチオ、n-ブチルチオ、tert-ブチルチオ等)、(19)炭素数6ないし10のアリールチオ基(例、フェニルチオ、ナフチルチオ等)、(20)炭素数7ないし19のアラルキルチオ基(例、ベンジルチオ、トリチルチオ等)、(21)炭素数1ないし6のアルキルスルフィニル基(例、メチルスルフィニル、エチルスルフィニル、プロピルスルフィニル等)、(22)炭素数6ないし10のアリールスルフィニル基(例、フェニルスルフィニル等)、(23)ハロゲン原子(例、フッ素、塩素、臭素、ヨウ素等)で1ないし3個置換されていてもよい炭素数1ないし6のアルキルスルホニル基(例、メチルスルホニル、エチルスルホニル、プロピルスルホニル等)、(24)炭素数6ないし10のアリールスルホニル基(例、フェニルスルホニル、トシリ等)、(25)アミ

ノ基、(26)炭素数1ないし8のアルカノイルアミノ基(例、アセチルアミノ、プロピオニルアミノ等)、(27)モノーまたはジー- C_{1-4} アルキルアミノ基(例、メチルアミノ、エチルアミノ、n-プロピルアミノ、イソプロピルアミノ、n-ブチルアミノ、ジメチルアミノ、ジエチルアミノ等)、(28)炭素数7ないし11のアリールカルボニルアミノ基(例、ベンゾイルアミノ、p-トルオイルアミノ、1-ナフトイルアミノ、2-ナフトイルアミノ等)、(29)炭素数2ないし5のアルコキシカルボニルアミノ基(例、メトキシカルボニルアミノ、エトキシカルボニルアミノ、tert-ブトキシカルボニルアミノ等)、(30)炭素数8ないし13のアラルキルオキシカルボニルアミノ基(例、ベンジルオキシカルボニルアミノ、フェネチルオキシカルボニルアミノ等)、(31)炭素数1ないし6のアルキルスルホニルアミノ基(例、メチルスルホニルアミノ、エチルスルホニルアミノ等)、(32)炭素数6ないし10のアリールスルホニルアミノ基(例、フェニルスルホニルアミノ、トシリルアミノ等)、(33)炭素数1ないし6のアルカノイル基(例、ホルミル、アセチル、プロピオニル、イソプロピオニル、ブチリル、イソブチリル、バレリル、イソバレリル、ピバロイル、ヘキサノイル等)、(34)炭素数8ないし13のアラルキルカルボニル基(例、ベンジルカルボニル、フェネチルカルボニル等)、(35)炭素数7ないし11のアリールカルボニル基(例、ベンゾイル、p-トルオイル、1-ナフトイル、2-ナフトイル等)、(36)モノーまたはジー- C_{1-4} アルキルカルバモイル基(例、メチルカルバモイル、エチルカルバモイル、n-プロピルカルバモイル、イソプロピルカルバモイル、n-ブチルカルバモイル、ジメチルカルバモイル、ジエチルカルバモイル等)、(37)ホスホノ基、(38)モノーまたはジー- C_{1-4} アルキルホスホノ基(例、メチルホスホノ、エチルホスホノ、n-プロピルホスホノ、イソプロピルホスホノ、n-ブチルホスホノ、ジメチルホスホノ、ジエチルホスホノ等)、(39)ニトロ基で置換されていてもよいアニジル基、(40)アミジノ基、(41)モノーまたはジー- C_{1-4} アルキルスルファモイル基(例、メチルスルファモイル、エチルスルファモイル、n-プロピルスルファモイル、イソプロピルスルファモイル、n-ブチルスルファモイル、ジメチルスルファモイル、ジエチルスルファモイル等)等が挙げられる。

【0013】これらの中で、(1)水酸基、(2)カルバモイル基、(3)カルボキシル基、(4)炭素数2ないし5のアルコキシカルボニル基(例、メトキシカルボニル、エトキシカルボニル等)、(5)炭素数8ないし13のアラルキルオキシカルボニル基(例、ベンジルオキシカルボニル、フェネチルオキシカルボニル等)、(6)炭素数7ないし11のアリールオキシカルボニル基(例、フェノキシカルボニル等)、(7)炭素数1ないし4のアルコキシ基(例、メトキシ、エトキシ、プロポキシ、イソプロポ

キシ、ブトキシ、イソブトキシ、sec-ブトキシ、tert-ブトキシ等)、(8)炭素数6ないし10のアリールオキシ基(例、フェノキシ等)、(9)炭素数7ないし12のアラルキルオキシ基(例、ベンジルオキシ、フェネチルオキシ等)、(10)炭素数1ないし6のアルカノイルオキシ基(例、ホルミルオキシ、アセチルオキシ、プロピオニルオキシ、イソプロピオニルオキシ、ブチリルオキシ、イソブチリルオキシ、バレリルオキシ、イソバレリルオキシ、ピバロイルオキシ、ヘキサノイルオキシ等)、(11)炭素数7ないし11のアリールカルボニルオキシ基(例、ベンゾイルオキシ、p-トルオイルオキシ、1-ナフトイルオキシ、2-ナフトイルオキシ等)、(12)アミノ基、(13)炭素数1ないし6のアルカノイルアミノ基(例、アセチルアミノ、プロピオニルアミノ等)、(14)モノーまたはジー- C_{1-4} アルキルアミノ基(例、メチルアミノ、エチルアミノ、n-プロピルアミノ、イソプロピルアミノ、n-ブチルアミノ、ジメチルアミノ、ジエチルアミノ等)、(15)炭素数7ないし11のアリールカルボニルアミノ基(例、ベンゾイルアミノ、p-トルオイルアミノ、1-ナフトイルアミノ、2-ナフトイルアミノ等)、(16)炭素数2ないし5のアルコキシカルボニルアミノ基(例、メトキシカルボニルアミノ、エトキシカルボニルアミノ、tert-ブトキシカルボニルアミノ等)、(17)炭素数8ないし13のアラルキルオキシカルボニルアミノ基(例、ベンジルオキシカルボニルアミノ、フェネチルオキシカルボニルアミノ等)、(18)炭素数1ないし6のアルキルスルホニルアミノ基(例、メチルスルホニルアミノ、エチルスルホニルアミノ等)、(19)炭素数6ないし10のアリールスルホニルアミノ基(例、フェニルスルホニルアミノ、トシリルアミノ等)等が好ましい。

【0014】一般式(I)において、R³は好ましくは置換基を有していてもよい環式基である。R³は、さらに好ましくは置換基を有していてもよい炭素数6ないし10のアリール基(例、フェニル、1-または2-ナフチル等)である。

【0015】一般式(I)において、R³で表される置換基を有していてもよい炭化水素残基における炭化水素残基としては、例えば(1)炭素数1ないし15のアルキ

40 ル基(例、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、sec-ブチル、tert-ブチル、ベンチル、ヘキシル、ヘプチル、オクチル、ノニル、デシル、ウンデシル、ドデシル、トリデシル、テトラデシル、ペンタデシル等)、(2)炭素数3ないし8のシクロアルキル基(例、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル等)、(3)炭素数2ないし10のアルケニル基(例、ビニル、アリル、2-メチルアリル、2-ブテニル、3-ブテニル、3-オクテニル等)、(4)炭素数2ないし10のアルキニル基(例、エチニル、2-プロピニル、3-ヘキシニル等)、(5)炭

素数3ないし10のシクロアルケニル基（例、シクロプロペニル、シクロペンテニル、シクロヘキセニル等）、(6)炭素数6ないし14のアリール基（例、フェニル、ナフチル等）、(7)炭素数7ないし16のアラルキル基（例、ベンジル、フェネチル等）等が用いられる。これらの中で、炭素数1ないし15のアルキル基（例、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、sec-ブチル、tert-ブチル、ベンチル、ヘキシル、ヘプチル、オクチル、ノニル、デシル、ウンデシル、ドデシル、トリデシル、テトラデシル、ペンタデシル等）が好ましい。

【0016】このような炭化水素基は、置換可能な位置に、例えば(1)ニトロ基、(2)水酸基、(3)オキソ基、(4)チオキソ基、(5)シアノ基、(6)カルバモイル基、(7)カルボキシル基、(8)炭素数2ないし5のアルコキシカルボニル基（例、メトキシカルボニル、エトキシカルボニル等）、(9)炭素数8ないし13のアラルキルオキシカルボニル基（例、ベンジルオキシカルボニル、フェネチルオキシカルボニル等）、(10)炭素数7ないし11のアリールオキシカルボニル基（例、フェノキシカルボニル等）、(11)スルホ基、(12)ハロゲン（例、フッ素、塩素、臭素、ヨウ素等）、(13)炭素数1ないし4のアルコキシ基（例、メトキシ、エトキシ、プロポキシ、イソプロポキシ、ブトキシ、イソブトキシ、sec-ブトキシ、tert-ブトキシ等）、(14)炭素数6ないし10のアリールオキシ基（例、フェノキシ等）、(15)ハロゲノフェノキシ（例、o-、m-またはp-クロロフェノキシ、o-、m-またはp-ブロモフェノキシ等）、(16)炭素数7ないし12のアラルキルオキシ基（例、ベンジルオキシ、フェネチルオキシ等）、(17)炭素数1ないし6のアルカノイルオキシ基（例、ホルミルオキシ、アセチルオキシ、プロピオニルオキシ、イソプロピオニルオキシ、ブチリルオキシ、イソブチリルオキシ、バレリルオキシ、イソバレリルオキシ、ピバロイルオキシ、ヘキサノイルオキシ等）、(18)炭素数7ないし11のアリールカルボニルオキシ基（例、ベンゾイルオキシ、p-トルオイルオキシ、1-ナフトイルオキシ、2-ナフトイルオキシ等）、(19)炭素数1ないし4のアルキルチオ基（例、メチルチオ、エチルチオ、n-ブロピルチオ、イソプロピルチオ、n-ブチルチオ、tert-ブチルチオ等）、(20)炭素数6ないし10のアリールチオ基（例、フェニルチオ、ナフチルチオ等）、(21)炭素数1ないし6のアルキルスルフィニル基（例、メチルスルフィニル、エチルスルフィニル、プロピルスルフィニル等）、(22)炭素数6ないし10のアリールスルフィニル基（例、フェニルスルフィニル等）、(23)炭素数1ないし6のアルキルスルホニル基（例、メチルスルホニル、エチルスルホニル、プロピルスルホニル等）、(24)炭素数6ないし10のアリールスルホニル基（例、フェニルスルホニル、トシリ等）、(25)アミノ、(26)炭素数1ない

し6のアルカノイルアミノ基（例、アセチルアミノ、プロピオニルアミノ等）、(27)モノーまたはジーC₁₋₄アルキルアミノ基（例、メチルアミノ、エチルアミノ、n-ブロピルアミノ、イソブロピルアミノ、n-ブチルアミノ、ジメチルアミノ、ジエチルアミノ等）、(28)炭素数7ないし11のアリールカルボニルアミノ基（例、ベンゾイルアミノ、p-トルオイルアミノ、1-ナフトイルアミノ、2-ナフトイルアミノ等）、(29)炭素数1ないし5のアルコキシカルボニルアミノ基（例、メトキシカルボニルアミノ、エトキシカルボニルアミノ、tert-ブトキシカルボニルアミノ等）、(30)炭素数8ないし13のアラルキルオキシカルボニルアミノ基（例、ベンジルオキシカルボニルアミノ、フェネチルオキシカルボニルアミノ等）、(31)炭素数1ないし6のアルキルスルホニルアミノ基（例、メチルスルホニルアミノ、エチルスルホニルアミノ等）、(32)炭素数6ないし10のアリールスルホニルアミノ基（例、フェニルスルホニルアミノ、トシリアミノ等）、(33)炭素数1ないし6のアルカノイル基（例、ホルミル、アセチル、プロピオニル、イソプロピオニル、ブチリル、イソブチリル、バレリル、イソバレリル、ピバロイル、ヘキサノイル等）、(34)炭素数8ないし13のアラルキルカルボニル基（例、ベンジルカルボニル、フェネチルカルボニル等）、(35)炭素数7ないし11のアリールカルボニル基（例、ベンゾイル、p-トルオイル、1-ナフトイル、2-ナフトイル等）、(36)モノーまたはジーC₁₋₄アルキルカルバモイル基（例、メチルカルバモイル、エチルカルバモイル、n-ブロピルカルバモイル、イソブロピルカルバモイル、n-ブチルカルバモイル、ジメチルカルバモイル、ジエチルカルバモイル等）、(37)ホスホノ基、(38)モノーまたはジーC₁₋₄アルキルホスホノ基（例、メチルホスホノ、エチルホスホノ、n-ブロピルホスホノ、イソブロピルホスホノ、n-ブチルホスホノ、ジメチルホスホノ、ジエチルホスホノ等）、(39)ニトロ基で置換されていてもよいグアニジル基、(40)アミジノ基、(41)(a)ハロゲン（例、臭素、塩素、フッ素等）、(b)炭素数1ないし4のアルキル基（例、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル等）及び(c)ハロゲノフェノキシ等（例、o-、m-またはp-クロロフェノキシ、o-、m-またはp-ブロモフェノキシ等）から選ばれる1ないし4個の置換基を有していてもよい炭素原子以外に酸素、硫黄、窒素等から選ばれるヘテロ原子を1ないし4個含む5ないし6員複素環またはその縮合複素環基（例、2-または3-チエニル、2-または3-フリル、2-または3-ピロリル、3-、4-または5-ピラゾリル、2-、4-または5-チアゾリル、3-、4-または5-イソチアゾリル、2-、4-または5-オキサゾリル、3-、4-または5-イソオキサゾリル、2-、4-または5-イミダゾリル、1,2,3-または1,2,4-トリアゾリル、1Hまたは2H-テトラゾリ

ル, 2-、3-または4-ピリジル, 2-、4-または5-ピリミジル, 3-または4-ピリダジニル, キノリル, イソキノリル, インドリル等)、及び(42)炭素数1ないし10のハロアルキル基(例、ジフルオロメチル, トリフルオロメチル, トリフルオロエチル, トリクロロエチル等)等から選ばれる1ないし5個の置換基を有していてもよいほか、炭化水素基がシクロアルキル、シクロアルケニル、アリールまたはアラルキル基である場合は炭素数1ないし4のアルキル基(例、メチル, エチル, プロピル, イソプロピル, プチル等)を置換基として1ないし4個有していてもよい。一般式(I)において、R'は好ましくは水素である。

【0017】一般式(I)において、R'で表される保護されていてもよいアミノ基で置換された炭化水素残基における炭化水素残基は、前記したR'で表される置換基を有していてもよい炭化水素残基における炭化水素残基と同様のものが用いられる。炭化水素残基は、好ましくは炭素数1ないし15のアルキル基(例、メチル, エチル, プロピル, イソプロピル, プチル, イソブチル, sec-ブチル, tert-ブチル, ペンチル, イソペンチル, ネオペンチル, ヘキシル, ヘプチル, オクチル, ノニル, デシル, ウンデシル, ドデシル, トリデシル, テトラデシル, ペンタデシル等)等が用いられる。

【0018】一般式(I)において、R'で表される保護されていてもよいアミノ基で置換された炭化水素残基におけるアミノ基の保護基としては、例えば(1)ホルミル、(2)(a)ハロゲン原子(例、塩素, 臭素, フッ素等)、(b)炭素数2ないし7のアルカノイル基(例、アセチル, プロピオニル, イソプロピオニル, ブチリル, イソブチリル, バレリル, イソバレリル, ピバロイル, ヘキサノイル等)及び(c)ニトロ基等から選ばれる1ないし3個の置換基を有していてもよい炭素数2ないし7のアルカノイル基(例、アセチル, プロピオニル, イソプロピオニル, ブチリル, イソブチリル, バレリル, イソバレリル, ピバロイル, ヘキサノイル等)、(3)(a)ハロゲン原子(例、塩素, 臭素, フッ素等)、(b)炭素数2ないし7のアルカノイル基(例、アセチル, プロピオニル, イソプロピオニル, ブチリル, イソブチリル, バレリル, イソバレリル, ピバロイル, ヘキサノイル等)及び(c)ニトロ基等から選ばれる1ないし3個の置換基を有していてもよい炭素数7ないし11のアリールカルボニル基(例、ベンゾイル, p-トルオイル, 1-ナフトイル, 2-ナフトイル等)、(4)(a)ハロゲン原子(例、塩素, 臭素, フッ素等)、(b)炭素数2ないし7のアルカノイル基(例、アセチル, プロピオニル, イソプロピオニル, ブチリル, イソブチリル, バレリル, イソバレリル, ピバロイル, ヘキサノイル等)及び(c)ニトロ基等から選ばれる1ないし3個の置換基を有していてもよい炭素数2ないし7のアルコキシカルボニル基(例、メトキシカルボニル, エトキシカルボニル, プロ

ポキシカルボニル, イソプロポキシカルボニル, tert-ブトキシカルボニル等)、(5)(a)ハロゲン原子(例、塩素, 臭素, フッ素等)、(b)炭素数2ないし7のアルカノイル基(例、アセチル, プロピオニル, イソプロピオニル, ブチリル, イソブチリル, バレリル, イソバレリル, ピバロイル, ヘキサノイル等)及び(c)ニトロ基等から選ばれる1ないし3個の置換基を有していてもよい炭素数7ないし11のアリールオキシカルボニル基(例、フェノキシカルボニル等)、(6)(a)ハロゲン原子(例、塩素, 臭素, フッ素等)、(b)炭素数2ないし7のアルカノイル基(例、アセチル, プロピオニル, イソプロピオニル, ブチリル, イソブチリル, バレリル, イソバレリル, ピバロイル, ヘキサノイル等)及び(c)ニトロ基等から選ばれる1ないし3個の置換基を有していてもよい炭素数8ないし13のアラルキカルボニル基(例、ベンジルカルボニル, フェネチルカルボニル等)、(7)(a)ハロゲン原子(例、塩素, 臭素, フッ素等)、(b)炭素数2ないし7のアルカノイル基(例、アセチル, プロピオニル, イソプロピオニル, ブチリル, イソブチリル, バレリル, イソバレリル, ピバロイル, ヘキサノイル等)及び(c)ニトロ基等から選ばれる1ないし3個の置換基を有していてもよい炭素数8ないし13のアラルキルオキシカルボニル基(例、ベンジルオキシカルボニル, フェネチルオキシカルボニル等)、(8)(a)ハロゲン原子(例、塩素, 臭素, フッ素等)、(b)炭素数2ないし7のアルカノイル基(例、アセチル, プロピオニル, イソプロピオニル, ブチリル, イソブチリル, バレリル, イソバレリル, ピバロイル, ヘキサノイル等)及び(c)ニトロ基等から選ばれる1ないし3個の置換基を有していてもよいトリチル基、(9)(a)ハロゲン原子(例、塩素, 臭素, フッ素等)、(b)炭素数2ないし7のアルカノイル基(例、アセチル, プロピオニル, イソプロピオニル, ブチリル, イソブチリル, バレリル, イソバレリル, ピバロイル, ヘキサノイル等)及び(c)ニトロ基等から選ばれる1ないし3個の置換基を有していてもよいフタロイル基、(10)(a)ハロゲン原子(例、塩素, 臭素, フッ素等)、(b)炭素数2ないし7のアルカノイル基(例、アセチル, プロピオニル, イソプロピオニル, ブチリル, イソブチリル, バレリル, イソバレリル, ピバロイル, ヘキサノイル等)及び(c)ニトロ基等から選ばれる1ないし3個の置換基を有していてもよい炭素数6ないし10のアリールスルホニル基(例、フェニルスルホニル, トシル等)、(11)(a)ハロゲン原子(例、塩素, 臭素, フッ素等)、(b)炭素数2ないし7のアルカノイル基(例、アセチル, プロピオニル, イソプロピオニル, ブチリル, イソブチリル, バレリル, イソバレリル, ピバロイル, ヘキサノイル等)及び(c)ニトロ基等から選ばれる1ないし3個の置換基を有していてもよい炭素数1ないし6のアルキルスルホニル基(例、メチルスルホニル, エチルスルホニ

ル、プロピルスルホニル等)、(12)(a)ハロゲン原子(例、塩素、臭素、フッ素等)、(b)炭素数2ないし7のアルカノイル基(例、アセチル、プロピオニル、イソプロピオニル、ブチリル、イソブチリル、バレリル、イソバレリル、ビバロイル、ヘキサノイル等)及び(c)ニトロ基等から選ばれる1ないし3個の置換基を有していてもよい炭素数1ないし6のアルキル基(例、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、sec-ブチル、tert-ブチル、ペンチル、ヘキシル等)、(13)(a)ハロゲン原子(例、塩素、臭素、フッ素等)、(b)炭素数2ないし7のアルカノイル基(例、アセチル、プロピオニル、イソプロピオニル、ブチリル、イソブチリル、バレリル、イソバレリル、ビバロイル、ヘキサノイル等)及び(c)ニトロ基等から選ばれる1ないし3個の置換基を有していてもよい炭素数1ないし6のアミノアルキル基(例、アミノメチル、アミノエチル、3-アミノプロピル、4-アミノブチル、5-アミノペンチル、6-アミノヘキシル等)、(14)(a)ハロゲン原子(例、塩素、臭素、フッ素等)、(b)炭素数2ないし7のアルカノイル基(例、アセチル、プロピオニル、イソプロピオニル、ブチリル、イソブチリル、バレリル、イソバレリル、ビバロイル、ヘキサノイル等)及び(c)ニトロ基等から選ばれる1ないし3個の置換基を有していてもよい炭素数7ないし12のアラルキル基(例、ベンジル、フェネチル等)等が挙げられる。

【0019】一般式(I)において、R'で表されるアルケニル基としては、炭素数2ないし10のアルケニル基(例、ビニル、アリル、1-プロペニル、1-、2-または3-ブチニル、2-メチルアリル、1-、2-、3-または4-ペンテニル、2-または3-メチル-2-ブチニル、1-、2-、3-、4-または5-ヘキセニル、1-、2-、3-、4-、5-または6-ヘプチニル、1-、2-、3-、4-、5-、6-または7-オクテニル、1-、2-、3-、4-、5-、6-、7-または8-ノネニル、1-、2-、3-、4-、5-、6-、7-、8-または9-デセニル等)等が用いられる。

【0020】一般式(I)において、R'は、好ましくは保護されていてもよいアミノ基で置換された炭化水素残基である。R'は、さらに好ましくは保護されていてもよいアミノ基で置換された炭素数1ないし15のアルキル基(例、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、sec-ブチル、tert-ブチル、ペンチル、イソペンチル、ネオペンチル、ヘキシル、ヘプチル、オクチル、ノニル、デシル、ウンデシル、ドデシル、トリデシル、テトラデシル、ペンタデシル等)である。

【0021】一般式(I)における、R³とR'がこれらが結合する窒素原子と共に形成する少なくとも2個のヘテロ原子を含有する複素環基としては、例えば窒素原

子以外に例えば酸素原子、硫黄原子、窒素原子などのヘテロ原子を1ないし4個含む5ないし8員複素環またはその縮合複素環等が用いられる。具体的には、(1)例えば1,3-ジアザシクロヘキサン-1-イル、1-アザ-3-オキサシクロヘキサン-1-イル、1-アザ-3-チアシクロヘキサン-1-イル、ピラゾリル、ピラゾリジニル、3-ピラゾリン-2-イル、2-イミダゾリン-1-イル、1H-または2H-1,2,3-トリアゾリル、1H-または4H-1,2,4-トリアゾリル、1H-または2H-テトラゾリル等の窒素原子以外に酸素原子、硫黄原子、窒素原子等から選ばれたヘテロ原子を1ないし3個含む5員複素環基、(2)例えばチオモルホリノ、モルホリノ、ピペラジニル、4H-1,4-オキサジニル、4H-1,4-チアジニル等の窒素原子以外に酸素原子、硫黄原子、窒素原子等から選ばれたヘテロ原子を1ないし2個含む6員複素環基、(3)例えば1H-インダゾール-1-イル、プリン-1-イル、フェノチアジン-10-イル、フェノオキサジン-10-イル等の窒素原子以外に酸素原子、硫黄原子、窒素原子等から選ばれたヘテロ原子を1ないし3個含む2環性または3環性縮合複素環基等が用いられる。

【0022】これらの中で、(1)例えば1,3-ジアザシクロヘキサン-1-イル、1-アザ-3-オキサシクロヘキサン-1-イル、1-アザ-3-チアシクロヘキサン-1-イル、ピラゾリル、ピラゾリジニル、3-ピラゾリン-2-イル、2-イミダゾリン-1-イル、1H-または2H-1,2,3-トリアゾリル、1H-または4H-1,2,4-トリアゾリル、1H-または2H-テトラゾリル等の窒素原子以外に酸素原子、硫黄原子、窒素原子等から選ばれたヘテロ原子を1ないし2個含む5員複素環基、(2)例えばチオモルホリノ、モルホリノ、ピペラジニル、4H-1,4-オキサジニル、4H-1,4-チアジニル等の窒素原子以外に酸素原子、硫黄原子、窒素原子等から選ばれたヘテロ原子を1ないし2個含む6員複素環基が好ましい。複素環基は、さらに好ましくは例えばチオモルホリノ、モルホリノ、ピペラジニル、4H-1,4-オキサジニル、4H-1,4-チアジニル等の窒素原子以外に酸素原子、硫黄原子、窒素原子等から選ばれたヘテロ原子を1ないし2個含む6員複素環基である。

【0023】このような複素環基は、置換可能な位置に、例えば(1)炭素数1ないし6のアルキル基(例、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、sec-ブチル、tert-ブチル、ペンチル、イソペンチル、sec-ペンチル、ネオペンチル、tert-ペンチル、ヘキシル等)、(2)炭素数2ないし10のアルケニル基(例、ビニル、1-メチルビニル、1-プロペニル、アリル、2-メチルアリル、2-ブチニル、3-ブチニル、3-オクテニル等)、(3)炭素数2ないし10のアルキニル基(例、エチニル、1-プロピニル、プロパルギル、3-ヘキ

シニル等)、(4)炭素数3ないし8のシクロアルキル基(例、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル基等)、(5)炭素数3ないし10のシクロアルケニル基(例、シクロプロペニル、シクロペニテニル、シクロヘキセニル基等)、(6)炭素数7ないし12のアラルキル基(例、ベンジル、 α -メチルベンジル、フェネチル等)、(7)炭素数6ないし10のアリール基(例、フェニル、ナフチル等)、(8)炭素数1ないし6のアルコキシ基(例、メトキシ、エトキシ、プロポキシ、イソプロポキシ、n-ブトキシ、イソブトキシ、sec-ブトキシ、tert-ブトキシ基等)、(9)炭素数6ないし10のアリールオキシ基(例、フェノキシ等)、(10)炭素数7ないし12のアラルキルオキシ基(例、ベンジルオキシ、 α -メチルベンジルオキシ、フェネチルオキシ等)、(11)炭素数1ないし6のアルカノイル基(例、ホルミル、アセチル、プロピオニル、イソプロピオニル、ブチリル、イソブチリル、バレリル、イソバレリル、ピバロイル、ヘキサノイル等)、(12)炭素数7ないし11のアリールカルボニル基(例、ベンゾイル、p-トルオイル、1-ナフトイル、2-ナフトイル等)、(13)炭素数8ないし13のアラルキルカルボニル基(例、ベンジルカルボニル、 α -メチルベンジルカルボニル、フェネチルカルボニル等)、(14)炭素数1ないし6のアルカノイルオキシ基(例、ホルミルオキシ、アセチルオキシ、プロピオニルオキシ、イソプロピオニルオキシ、ブチリルオキシ、イソブチリルオキシ、バレリルオキシ、イソバレリルオキシ、ピバロイルオキシ、ヘキサノイルオキシ等)、(15)炭素数7ないし11のアリールカルボニルオキシ基(例、ベンゾイルオキシ、p-トルオイルオキシ、1-ナフトイルオキシ、2-ナフトイルオキシ等)、(16)カルボキシル基、(17)炭素数2ないし7のアルコキシカルボニル基(例、メトキシカルボニル、エトキシカルボニル、n-プロポキシカルボニル、イソプロポキシカルボニル、n-ブトキシカルボニル、イソブトキシカルボニル、tert-ブトキシカルボニル基等)、(18)炭素数8ないし13のアラルキルオキシカルボニル基(例、ベンジルオキシカルボニル、フェネチルオキシカルボニル等)、(19)炭素数7ないし11のアリールオキシカルボニル基(例、フェノキシカルボニル等)、(20)カルバモイル基、(21)N-モノ- C_{1-4} アルキルカルバモイル基(例、N-メチルカルバモイル、N-エチルカルバモイル、N-プロピルカルバモイル、N-イソプロピルカルバモイル、N-ブチルカルバモイル等)、(22)N、N-ジ- C_{1-4} アルキルカルバモイル基(例、N,N-ジメチルカルバモイルアミノ、N,N-ジエチルカルバモイルアミノ、N,N-ジプロピルカルバモイルアミノ、N,N-ジブチルカルバモイルアミノ等)、(23)環状アミノカルボニル基(例、1-アジリジニルカルボニル、1-アゼチジニルカルボニル、1-ピロリジニルカルボニル、1-ピペリジニルカルボニル、N-メチルピペラジニルカルボニル、モルホリノカルボニル基等)、(24)ハロ

ゲン原子(例、フッ素、塩素、臭素、ヨウ素等)、(25)モノ-,ジ-またはトリ-ハロゲノ- C_{1-4} アルキル基(例、クロロメチル、ジクロロメチル、トリフルオロメチル、トリフルオロエチル等)、(26)オキソ基、(27)チオキソ基、(28)アミジノ基、(29)イミノ基、(30)アミノ基、(31)モノ- C_{1-4} アルキルアミノ基(例、メチルアミノ、エチルアミノ、プロピルアミノ、イソプロピルアミノ、ブチルアミノ等)、(32)ジ- C_{1-4} アルキルアミノ基(例、ジメチルアミノ、ジエチルアミノ、ジプロピルアミノ、ジイソプロピルアミノ、ジブチルアミノ等)、(33)炭素原子と1個の窒素原子以外に酸素原子、硫黄原子、窒素原子等から選ばれたヘテロ原子を1ないし3個含んでいてもよい3ないし6員の環状アミノ基(例、アジリジニル、アゼチジニル、ピロリジニル、ピロリニル、ピロリル、イミダゾリル、ピラゾリル、イミダゾリジニル、ピペリジノ、モルホリノ、ジヒドロピリジル、ピリジル、N-メチルピペラジニル、N-エチルピペラジニル基等)、(34)炭素原子1ないし6のアルカノイルアミノ基(例、ホルミルアミノ、アセチルアミノ、トリフルオロアセチルアミノ、プロピオニルアミノ、ブチリルアミノ、イソブチリルアミノ等)、(35)炭素数7ないし11のアリールカルボニルアミノ基(例、ベンゾイルアミノ、p-トルオイルアミノ、1-ナフトイルアミノ、2-ナフトイルアミノ等)、(36)炭素数2ないし7のアルコキシカルボニルアミノ基(例、メトキシカルボニルアミノ、エトキシカルボニルアミノ、tert-ブトキシカルボニルアミノ等)、(37)炭素数8ないし13のアラルキルオキシカルボニルアミノ基(例、ベンジルオキシカルボニルアミノ、フェネチルオキシカルボニルアミノ等)、(38)炭素数1ないし6のアルキルスルホニルアミノ基(例、メチルスルホニルアミノ、エチルスルホニルアミノ、プロピルスルホニルアミノ等)、(39)炭素数6ないし12のアリールスルホニルアミノ基(例、フェニルスルホニルアミノ、トリルアミノ等)、(40)カルバモイルアミノ基(例、N-メチルカルバモイルアミノ、N-エチルカルバモイルアミノ、N-ブチルカルバモイルアミノ、N-イソプロピルカルバモイルアミノ、N-ブチルカルバモイルアミノ等)、(41)N、N-ジ- C_{1-4} アルキルカルバモイルアミノ基(例、N-メチルカルバモイルアミノ、N-エチルカルバモイルアミノ、N-ブチルカルバモイルアミノ、N-イソプロピルカルバモイルアミノ、N-ブチルカルバモイルアミノ等)、(42)N、N-ジ- C_{1-4} アルキルカルバモイルアミノ基(例、N,N-ジメチルカルバモイルアミノ、N,N-ジエチルカルバモイルアミノ、N,N-ジプロピルカルバモイルアミノ、N,N-ジブチルカルバモイルアミノ等)、(43)炭素数1ないし3のアルキレンジオキシ基(例、メチレンジオキシ、エチレンジオキシ基等)、(44)-B(OH)₂、(45)ヒドロキシ基、(46)エポキシ基(-O-)、(47)ニトロ基、(48)シアノ基、(49)メルカプト基、(50)スルホ基、(51)スルフィノ基、(52)ホスホ基、(53)スルファモイル基、(54)炭素数1ないし6のモノアルキルスルファモイル基(例、N-メチルスルファモイル、N-エチルスルファモイル、N-プロピルスルファモ

イル, N-イソプロピルスルファモイル, N-ブチルスルファモイル等)、(55)ジ-C₁₄アルキルスルファモイル基(例、N,N-ジメチルスルファモイル, N,N-ジエチルスルファモイル, N,N-ジプロピルスルファモイル, N,N-ジブチルスルファモイル等)、(56)炭素数1ないし6のアルキルチオ基(例、メチルチオ, エチルチオ, プロピルチオ, イソプロピルチオ, n-ブチルチオ, sec-ブチルチオ, tert-ブチルチオ等)、(57)炭素数6ないし10のアリールチオ基(例、フェニルチオ, ナフチルチオ等)、(58)炭素数1ないし6のアルキルスルフィニル基(例、メチルスルフィニル, エチルスルフィニル, プロピルスルフィニル, ブチルスルフィニル等)、(59)炭素数6ないし10のアリールスルフィニル基(例、フェニルスルフィニル等)、(60)炭素数1ないし6のアルキルスルホニル基(例、メチルスルホニル, エチルスルホニル, プロピルスルホニル, ブチルスルホニル等)、及び(61)炭素数6ないし10のアリールスルホニル基(例、フェニルスルホニル, トシル等)から選ばれた1ないし5個の置換基を有していてもよい。

【0024】一般式(I)において、R³およびR⁴は、これらが結合する窒素原子と共に形成する少なくとも2個のヘテロ原子を含有する複素環基であることが好ましい。該複素環基は、好ましくは例えばチオモルホリノ, モルホリノ, ピペラジニル, 4H-1, 4-オキサジニル, 4H-1, 4-チアジニル等の窒素原子以外に酸素原子, 硫黄原子, 窒素原子等から選ばれたヘテロ原子を1ないし2個含む6員複素環基である。

【0025】化合物(I)またはその塩の好ましい例としては、例えばN-[N-[(2S,3S)-3-トランス-カルボキシオキシラン-2-カルボニル]-L-フェニルアラニル]-1,4-ジアミノブタン, N-[N-[(2S,3S)-3-トランス-エトキシカルボニルオキシラン-2-カルボニル]-L-フェニルアラニル]-1,4-ジアミノブタン, N-[N-[(2S,3S)-3-トランス-エトキシカルボニルオキシラン-2-カルボニル]-L-フェニルアラニル]モルホリン, N-[N-[(2S,3S)-3-トランス-カルボキシオキシラン-2-カルボニル]-L-フェニルアラニル]モルホリン, N-[N-[(2S,3S)-3-トランス-エトキシカルボニルオキシラン-2-カルボニル]-L-チロシル]モルホリン, N-[N-[(2S,3S)-3-トランス-カルボキシオキシラン-2-カルボニル]-3-(2-ナフチル)-L-アラニル]モルホリン, N-[N-[(2S,3S)-3-トランス-カルボキシオキシラン-2-カルボニル]-3-(2-ナフチル)-L-アラニル]モルホリンまたはそれらの塩等が挙げられる。

【0026】一般式(XI)において、R²で表されるエステル化またはアミド化されていてもよいカルボキシル基は、前記した一般式(I)におけるR¹と同様のものが用いられる。一般式(XI)において、R²で表される多環式芳香環基は、好ましくは炭素数8ないし18の

多環式芳香環基である。具体的には、例えば1-, 2-または3-ペンタレニル, 1-または2-ナフチル, 1-, 2-, 4-, 5-または6-アズレニル, キノリル, イソキノリル, インドリル等の炭素数8ないし12の2環性芳香環基、例えば1-, 2-または9-アントリル, 1-, 2-, 3-, 4-または9-フェナントリル等の炭素数12ないし18の3環性芳香環基等が用いられる。多環式芳香環基は、さらに好ましくは例えば1-, 2-または3-ペンタレニル, 1-または2-ナフチル, 1-, 2-, 4-, 5-または6-アズレニル, キノリル, イソキノリル, インドリル等の炭素数8ないし12の2環性芳香環基である。このような多環式芳香環基は、置換可能な位置に、1ないし5個の置換基を有していてもよい。ここにおいて、置換基は、前記した一般式(I)における、R²で表される環式基において定義した置換基と同様のものが用いられる。一般式(XI)において、R²およびR⁴で表されるアルキル基としては、例えば炭素数1ないし15のアルキル基(例、メチル, エチル, プロピル, イソプロピル, ブチル, イソブチル, sec-ブチル, tert-ブチル, ペンチル, イソペンチル, ヘキシル, ヘプチル, オクチル, ノニル, デシル, ウンデシル, ドデシル, トリデシル, テトラデシル, ペンタデシル等)が用いられる。

【0027】化合物(XI)またはその塩の好ましい例としては、例えばN-[N-[(2S,3S)-3-トランス-エトキシカルボニルオキシラン-2-カルボニル]-3-(2-ナフチル)-L-アラニル]-1-アミノ-3-メチルブタン, N-[N-[(2S,3S)-3-トランス-カルボキシオキシラン-2-カルボニル]-3-(2-ナフチル)-L-アラニル]-1-アミノ-3-メチルブタンまたはそれらの塩等が挙げられる。

【0028】一般式(XXI)において、R²で表されるエステル化またはアミド化されていてもよいカルボキシル基は、前記した一般式(I)におけるR¹と同様のものが用いられる。上記一般式(XXI)において、R²で表されるアルキル基としては、例えばメチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、sec-ブチル、tert-ブチル、ペンチル、イソペンチル、ネオペンチル、ヘキシル、ヘプチル、オクチル、ノニル、デシル、ウンデシル、ドデシル、トリデシル、テトラデシル、ペンタデシル等の炭素数1ないし15のアルキル基等が用いられる。これらの中で、炭素数2ないし10のアルキル基が好ましい。特に好ましくは炭素数3ないし5のアルキル基である。

【0029】上記一般式(XXI)において、R²およびR⁴で表される保護されていてもよいアミノ基で置換されたアルキル基におけるアミノ基の保護基としては、例えば(1)ホルミル、(2)(a)ハロゲン原子(例、塩素、臭素、フッ素等)、(b)炭素数2ないし7のアルカノイル(例、アセチル, プロピオニル, ブチリル, バレリル等)及び(c)ニトロ基等から選ばれる1ないし3個の置

換基を有していてもよい例えばアセチル、プロピオニル、ブチリル、バレリル等の炭素数2ないし7のアルカノイル、(3)(a)ハログン原子(例、塩素、臭素、フッ素等)、(b)炭素数2ないし7のアルカノイル(例、アセチル、プロピオニル、ブチリル、バレリル等)及び(c)ニトロ基等から選ばれる1ないし3個の置換基を有していてもよい例えばフェニルカルボニル等の炭素数7ないし11のアリールカルボニル基、(4)(a)ハログン原子(例、塩素、臭素、フッ素等)、(b)炭素数2ないし7のアルカノイル(例、アセチル、プロピオニル、ブチリル、バレリル等)及び(c)ニトロ基等から選ばれる1ないし3個の置換基を有していてもよい例えばメトキシカルボニル、エトキシカルボニル等の炭素数1ないし6のアルコキシカルボニル基、(5)(a)ハログン原子(例、塩素、臭素、フッ素等)、(b)炭素数2ないし7のアルカノイル(例、アセチル、プロピオニル、ブチリル、バレリル等)及び(c)ニトロ基等から選ばれる1ないし3個の置換基を有していてもよい例えばフェニルオキシカルボニル基、(6)(a)ハログン原子(例、塩素、臭素、フッ素等)、(b)炭素数2ないし7のアルカノイル(例、アセチル、プロピオニル、ブチリル、バレリル等)及び(c)ニトロ基等から選ばれる1ないし3個の置換基を有していてもよい例えばベンジルカルボニル、フェネチルカルボニル等の炭素数8ないし13のアラルキルカルボニル基、(7)(a)ハログン原子(例、塩素、臭素、フッ素等)、(b)炭素数2ないし7のアルカノイル(例、アセチル、プロピオニル、ブチリル、バレリル等)及び(c)ニトロ基等から選ばれる1ないし3個の置換基を有していてもよい例えばベンジルオキシカルボニル、フェネチルオキシカルボニル等の炭素数8ないし13のアラルキルオキシカルボニル基、(8)(a)ハログン原子(例、塩素、臭素、フッ素等)、(b)炭素数2ないし7のアルカノイル(例、アセチル、プロピオニル、ブチリル、バレリル等)及び(c)ニトロ基等から選ばれる1ないし3個の置換基を有していてもよいトリチル基、(9)(a)ハログン原子(例、塩素、臭素、フッ素等)、(b)炭素数2ないし7のアルカノイル(例、アセチル、プロピオニル、ブチリル、バレリル等)及び(c)ニトロ基等から選ばれる1ないし3個の置換基を有していてもよいフタロイル基、(10)(a)ハログン原子(例、塩素、臭素、フッ素等)、(b)炭素数2ないし7のアルカノイル(例、アセチル、プロピオニル、ブチリル、バレリル等)、(c)ニトロ基及び(d)炭素数1ないし6のアルキル(例、メチル、エチル、ブチル等)等から選ばれる1ないし3個の置換基を有していてもよい例えばフェニルスルホニル等の炭素数6ないし10のアリールスルホニル基等が挙げられる。

【0030】R^aおよびR^bは、好ましくはハログン原子(例、塩素、臭素、フッ素等)、炭素数2ないし7の

アルカノイル(例、アセチル、プロピオニル、ブチリル、バレリル等)及びニトロ基等から選ばれる1ないし3個の置換基を有していてもよい例えばベンジルオキシカルボニル、フェネチルオキシカルボニル等の炭素数8ないし13のアラルキルオキシカルボニル基で保護されていてもよいアミノ基で置換されたアルキル基である。R^aおよびR^bは、さらに好ましくはアミノアルキル基である。このようなアルキル基としては、例えばメチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、sec-ブチル、tert-ブチル、ペンチル、イソペンチル、ネオペンチル、ヘキシル、ヘプチル、オクチル、ノニル、デシル、ウンデシル、ドデシル、トリデシル、テトラデシル、ペンタデシル等の炭素数1ないし15のアルキル基等が用いられる。これらの中で、炭素数1ないし10のアルキル基が好ましい。さらに炭素数1ないし6のアルキル基が特に好ましい。

【0031】本発明の化合物TAN-1756A、B、Cおよび/またはDを生産する微生物としてはケトミウム属に属し、TAN-1756A、B、Cおよび/またはDを生産する能力を有する微生物であればいずれのものでもよい。その例としては、大阪府の土壤から新たに分離された糸状菌の一菌株FL-41927株があげられる。本菌株は以下の性質を示す。

a) 形態的特徴

本菌株FL-41927は麦芽エキス寒天培地、パレイショ・ブドウ糖寒天培地やオートミール寒天培地等で良好に生育し、子のう殻を形成する。子のう殻は表在性、暗オリーブ褐色、亜球形から卵形で頂端に孔口を持ち、65-75 μm × 95-105 μmの大きさを有している。子のう殻にはオリーブ褐色の頂毛が多数密生し、からまった塊状となる。頂毛は隔壁を有しており、幅2.5-3.0 μmで、基部より波形に曲折、或はゆるくコイル状に巻き分岐しない。淡オリーブ褐色の側毛は、直生或はわずかに波形で子のう殻上部では頂毛と一体となる。子のうはこん棒形で8個の胞子を有している。子のう胞子(7-9 μm × 10-12 μm)はオリーブ褐色、レモン形で両端はややとがっている。

【0032】b) 寒天培地上の性状

(1) 麦芽エキス寒天培地: 24°Cでの生育は良好で、40週間後のコロニーの直径は78-83 mmに達する。表面は薄い羊毛状の菌糸体よりなり、中央部に黒灰色の斑点が塊になり、中間部から周辺部にかけては放射状に薄く拡がっている。外縁は規則正しく縁取られている。気生菌糸の発達は良好で、10日目頃から黒色の子のう果を形成し2週間後には中央部に塊となる。中央部から中間部にかけて黒灰色から灰白色を呈し、周辺部はクリーム色を呈する。裏面の中央部から中間部にかけては、淡黒灰色から淡灰色を呈し、周辺部は象牙色を呈する。可溶性色素の生成は認められない。

(2) パレイショ・ブドウ糖寒天培地: 24°Cでの生育

は良好で、2週間後のコロニーの直径は55-60mmに達する。表面はやや盛り上がった羊毛状の菌糸体よりなり、中央部はくぼんでいて、中間部から周辺部にかけては放射状に薄く拡がっている。外縁は規則正しく縁取られている。気生菌糸の発達は非常によく、10日目頃から黒色の子のう果を形成し、2週間後にはコロニー全体に拡がる。中央部は暗黒灰色、中間部は淡黒灰色、周辺部は淡灰色を呈する。裏面の中央部から中間部にかけては、淡黒灰色から淡灰色を呈し、周辺部は象牙色を呈する。可溶性色素の生成は認められない。

【0033】(3) ツアベック寒天培地：24℃での生育は遅く貧弱で、2週間後のコロニーの直径は40-50mmである。表面は平坦で薄い羊毛状の菌糸体よりなり、外縁は不規則で波状に縁取られている。気生菌糸の発達は悪く、子のう果の形成は認められない。全体に白色ないし黄白色を呈する。裏面は淡黄褐色ないし黄褐色を呈する。可溶性色素の生成は認められない。

c) 生理学的性状

本菌株の生育条件をパレイショ・ブドウ糖寒天培地で調べた。生育温度範囲は10-36℃で、至適温度は18-28℃であった。またpH4-pH12のいずれでも生育は良好であった。以上の結果、主に形態的特徴を基にして、かびの分離・培養と同定(D. Malloch著、宇田川俊一訳、1983年、医薬出版社)及び菌類図鑑(上)(宇田川俊一・椿啓介著、1978年、講談社サイエンティフィック)さらにジ・アスコマイセーテ・ジーナス・ケトミウム(The Ascomycete Genus *Chaetomium*)、ジェイ・エー・フォン・アルクス/ジェイ・グアロ/エム・ジェイ・フィグレス(J. A. von Arx/J. Guarro/M. J. Figueras)著、1986年、ジェイ・クラマー(J. Cramer)出版を参照して、本菌株をケトミウム・グロボサム(*Chaetomium globosum*)FL-41927株と同定した。本菌株は、平成5年8月17日に財団法人発酵研究所(IFO)に受託番号IFO 32580として、また平成5年10月18日に通商産業省工業技術院生命工学工業技術研究所(NIBH)に受託番号FERM BP-4443としてそれぞれ寄託されている。

【0034】本発明の製造法に使用されるTAN-1854Aおよび/またはBを生産する微生物としてはトリポクラディウム属に属し、TAN-1854Aおよび/またはBを生産する能力を有する微生物であればいずれのものでもよい。その例としては、奈良県の土壤から新たに分離された糸状菌の一菌株FL-43974株があげられる。本菌株は以下の性質を示す。

a) 形態的特徴

本菌株FL-43974は麦芽エキス寒天培地、パレイショ・ブドウ糖寒天培地やオートミール寒天培地等で良好に生育し、分生子も豊富に形成する。菌糸は隔壁を有しており、気生菌糸から分生子柄が不規則に分岐してい

る。フィアライド(0.3~1.6μm×5.0~8.0μm)は瓶型で先端は細まり、単生、時に2~3個が輪生する。分生子は連鎖せず、円筒形で2.1~2.3μm×2.6~2.8μmの大きさを有し、その表面は平滑であり、フィアライドの先端に分生子塊を形成する。

b) 寒天培地上の性状

(1) 麦芽エキス寒天培地：24℃での生育は中程度で、コロニーの拡がりは遅く極限的で、2週間後のコロニーの直径は35mmであった。表面の中央部は盛り上

10 がった羊毛状の菌糸体よりなり、外縁は規則正しく縁取られている。中央部は白色からクリーム色、中間部及び外周部は白色を呈し、裏面は淡黄色を呈する。可溶性色素の生成は認められない。

【0035】(2) パレイショ・ブドウ糖寒天培地：24℃での生育は中程度で、コロニーの拡がりは極限的で、2週間後のコロニーの直径は35~37mmであった。表面はやや盛り上がった羊毛状の菌糸体よりなり、外縁は規則正しく縁取られている。中央部から周辺部にかけては淡灰白色から淡灰黄色、裏面は淡黄褐色を呈する。可溶性色素の生成は認められない。

(3) ツアベック寒天培地：24℃での生育は貧弱で、2週間後のコロニーの直径は25mmであった。表面は平坦で、羊毛状の菌糸体が中央部から周辺部にかけて疎らに形成され、外縁はやや不規則に縁取られている。中央部から周辺部にかけては淡灰白色を呈し、裏面は中央部から周辺部にかけて象牙色からクリーム色を呈する。可溶性色素の生成は認められない。

c) 生理学的性状

本菌株の生育条件をパレイショ・ブドウ糖寒天培地で調べた。生育温度範囲は6~33℃で、至適温度は18~24℃であった。またpH3~pH12のいずれでも良好に生育した。以上の諸性質を基に、ジェイ・エー・フォン・アルクス(J. A. von Arx)著「ザ・ジェネラ・オブ・ファンジャイ・スボルレイティング・イン・ピュア・カルチャー(The Genera of Fungi Sporulating in Pure Culture)」[1981年、ジェイ・クラマー(J. Cramer)社]及びカナディアン・ジャーナル・オブ・ボトニー(Canadian Journal of Botany)61巻、1331頁(1983年)ジェイ・ビセット(J. Bissett);ノーツ・オン・トリポクラディウム・アンド・リレーテド・ジェネラ(Notes on *Tolypocladium* and Related Genera)を参照して、本菌株をトリポクラディウム・シリンドロスボラム(*Tolypocladium cylindrosporum*)FL-43974株と同定した。

【0036】本菌株は、平成5年8月17日に財団法人発酵研究所(IFO)に受託番号IFO 32582として、また平成5年10月18日に通商産業省工業技術院生命工学工業技術研究所(NIBH)に受託番号FERM BP-4445としてそれぞれ寄託されている。

50 ケトミウム属に属するTAN-1756A、B、Cおよ

び／またはD生産菌およびトリポクラディウム属に属するTAN-1854Aおよび／またはB生産菌は、他の糸状菌の場合と同様に、たとえば紫外線、放射線などの照射、単細胞分離、種々の変異処理、その他の手段で変異させることができ、このような変異株あるいは自然に得られる突然変異株であっても、上記した分類学的性状との比較において実質的に別種とするに足らず、しかも当該化合物を生産する性質を有するものは、すべて本明方法に利用し得る。

【0037】TAN-1756A、B、Cおよび／またはD生産菌およびTAN-1854Aおよび／またはB生産菌の培養に用いられる培地は、該菌が利用し得る栄養源を含むものなら、液状のものでも固状のものでもよいが、大量に処理するときは液体培地を用いるのがより適当である。培地には、当該生産菌が同化し得る炭素源、窒素源、無機物質、微量栄養源が適宜配合される。炭素源としては、たとえばグルコース、ラクトース、シュークロース、マルトース、デキストリン、スターチ、グリセリン、マンニトール、ソルビトール、油脂類

(例、大豆油、ラード油、チキン油など)、n-パラフィンその他が、窒素源としては、たとえば肉エキス、酵母エキス、乾燥酵母、大豆粉、コーン・スティープ・リカーパプトン、綿実粉、魔糖蜜、尿素、アンモニウム塩類(例、硫酸アンモニウム、塩化アンモニウム、硝酸アンモニウム、酢酸アンモニウムなど)その他が用いられる。更に、ナトリウム、カリウム、カルシウム、マグネシウム、鉄、マンガン、亜鉛、コバルト、ニッケルなどの塩類、リン酸、ホウ酸などの塩類や酢酸、プロピオン酸などの有機酸の塩類が適宜用いられる。その他、アミノ酸類(例、グルタミン酸、アスパラギン酸、アラニン、リジン、メチオニン、プロリンなど)、ペプチド類(例、ジペプチド、トリペプチドなど)、ビタミン類(例、B₁、B₂、ニコチン酸、B₁₂、Cなど)、核酸類(例、プリン、ピリジン、その誘導体など)等を含有させてもよい。もちろん、培地のpHを調節する目的で無機または有機の酸またはアルカリ類、緩衝剤などを加え、あるいは消泡の目的で油脂類、界面活性剤等の適量を添加して差し支えない。液体培養に際しては、培地のpHは中性付近、特にpH5.5～8が好ましい。

【0038】培養温度は約24℃～30℃が好ましい。培養時間は48時間～168時間が好ましい。培養物から目的とする化合物TAN-1756A、B、Cおよび／またはD、TAN-1854Aおよび／またはBを採取するには微生物の生産する代謝物をその微生物培養物から採取するのに通常使用される分離手段が適宜利用される。例えばTAN-1756A、B、CおよびD、TAN-1854AおよびBは水溶性両性物質の性質を示し、主として培養濾液中に含まれるので、まず培養液にろ過補助剤を加えてろ過、あるいは遠心分離によって菌体を除去し、得られた培養濾液を適宜担体に接触させて

濾液中の有効成分を吸着させ、ついで適宜の溶媒で有効物質を脱着させ、分別採取する手段が有利に利用される。クロマトグラフィーの担体としては活性炭、シリカゲル、微結晶セルロース、吸着性樹脂など化合物の吸着性の差を利用するもの、またはイオン交換樹脂、イオン交換セルロース、イオン交換セファデックスなど化合物の官能基の差を利用するもの、あるいは分子ふるい性担体類など化合物の分子量の差を利用するもの等が有利に用いられる。これら担体から目的とする化合物を溶出するためには担体の種類、性質によって組み合わせが異なるが、例えば水と混和し得る有機溶媒(例、メタノール、エタノール、アセトン、アセトニトリル等)と水、希アルカリ(例、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、炭酸水素ナトリウム等)水、希酸(例、塩酸、酢酸、ギ酸、リン酸等)水、緩衝液(例、酢酸緩衝液、リン酸緩衝液等)、食塩水などとの適宜の割合の混合溶媒が用いられる。

【0039】さらに詳しくは、担体として陽イオン交換樹脂、例えばアンバーライトIR-120、IRC-50(ローム・アンド・ハース社製、米国)、ダウエックス50W(ダウ・ケミカル社製、米国)、ダイヤイオンSK1A(三菱化成社製)または陰イオン交換樹脂、例えばアンバーライトIRA-402、IRA-68(ローム・アンド・ハース社製、米国)、ダウエックス1(ダウ・ケミカル社製、米国)、ダイヤイオンSA10B、PA-404、WA-30(三菱化成社製)などを用いると濾液中の本化合物が吸着され、塩類、アルカリあるいは酸含有の水溶液あるいは緩衝液などで溶出される。また、イオン交換分子ふるい性樹脂、例えばQAEまたはCM-セファデックス(ファルマシア社製、スウェーデン)などの担体に本化合物を吸着せしめ、塩類、アルカリあるいは酸含有の水溶液あるいは緩衝液などによって溶出させることができる。これらの溶出液中の塩類、着色物質などを取り除くためにはクロマト用活性炭(武田薬品工業社製)、吸着性樹脂、例えばダイヤイオンHP-20またはSP-207(三菱化成社製)、アンバーライトXAD-IまたはII(ローム・アンド・ハース社製、米国)、分子ふるい性樹脂、例えばセファデックスLH-20(ファルマシア社製、スウェーデン)。

あるいは微結晶セルロース、例えばアビセル(旭化成社製)またはフナセル(フナコシ株式会社製)などが有利に用いられる。

【0040】さらに、化合物を最終的に精製する場合に分取用高速液体クロマトグラフィー(HPLC)法も有利に用いられる。この方法を適用する場合、担体としてはオクタデシルシラン(ODS)系、アミノプロピルシラン系、ポリアミン系およびシリカゲル系のものが有利に用いられる。例えばODSの場合、YMCゲル(山村化学研究所製)あるいはTSKゲル(東洋曹達工業社製)などが用いられ、移動相としてはメタノールあるい

はアセトニトリルと水あるいは塩類含有水溶液の混合溶液が有利に用いられる。TAN-1756A、B、CおよびD、TAN-1854AおよびBは両性物質なので、自体公知の方法によりナトリウム塩、カリウム塩などのアルカリ金属塩、カルシウム塩、マグネシウム塩などのアルカリ土類金属塩などの塩や、酸付加塩、とりわけ薬理学的に許容される酸付加塩としても得ることができ、たとえば、無機酸（例、塩酸、硫酸、リン酸）あるいは有機酸（例、酢酸、プロピオン酸、クエン酸、酒石酸、リンゴ酸、藤酸、メタンスルホン酸、オクタンスルホン酸）などの塩があげられる。

【0041】本発明のTAN-1803を生産する微生物としてはトリコデルマ属に属し、TAN-1803を生産する能力を有する微生物であればいずれのものでもよい。その具体例として、例えばインドの土壤から新たに分離された糸状菌の一菌株FL-42547株があげられる。

【0042】本菌株は以下の性質を示す。

a) 形態的特徴

本菌株FL-42547は麦芽エキス寒天培地、パレイショ・ブドウ糖寒天培地やオートミール寒天培地等で良好に生育し、分生子も豊富に形成する。菌糸は隔壁を有しており、気生菌糸から長い分生子柄が直立あるいは不規則な向きに、単生あるいは輪生し、不稔菌糸を欠く。フィアライド（2.5～3.0 $\mu\text{m} \times$ 5.0～6.0 μm ）は、瓶型で3～5個が輪生する。分生子は連鎖せず、倒卵形、下端裁断状で2.1～2.3 $\mu\text{m} \times$ 2.6～2.8 μm の大きさを有し、その表面は平滑である。

b) 寒天培地上の性状

(1) 麦芽エキス寒天培地：24℃での生育は良好で、2週間後のコロニーの直径は90mm以上に達する。表面は平坦で、薄い羊毛状の気生菌糸を生じる。外縁は規則正しく縁取られている。分生子の形成は良好で輪状に拡がり輪紋状となり、分生子の形成にしたがって暗緑色から暗青緑色となる。裏面の中央部から周辺部にかけて淡黄緑色から淡黄灰色を呈する。可溶性色素の生成は認められない。

(2) パレイショ・ブドウ糖寒天培地：24℃での生育は良好で、2週間後のコロニーの直径は90mm以上に達する。表面は平坦で、羊毛状の気生菌糸を生じる。外縁は規則正しく縁取られている。分生子の形成は良好で輪状に拡がり輪紋状となり、分生子の形成にしたがって淡緑色から暗緑色となる。裏面の中央部から周辺部にかけて淡黄緑色から淡黄灰色を呈する。可溶性色素の生成は認められない。

【0043】(3) ツアベック寒天培地：24℃での生育は良好で、2週間後のコロニーの直径は90mm以上に達する。外縁は規則正しく縁取られている。気生菌糸は放射状に薄く拡がり、分生子の形成は中程度である。中央部から周辺部にかけて灰白色ないし灰色を呈する。

裏面は淡灰色ないし象牙色を呈する。可溶性色素の生成は認められない。

c) 生理学的性状

本菌株の生育条件をパレイショ・ブドウ糖寒天培地で調べた。生育温度範囲は12～36℃で、至適温度は19～23℃であった。またpH3～pH12のいずれでも生育はするが、pH9以上での生育は貧弱であった。

【0044】以上の諸性質を基に、「かびの分離・培養と同定」〔デー・マローチ (D. Malloch) 著、宇田川俊一訳、1983年、医薬出版株式会社〕及びエム・エー・リファイ (M. A. Rifai) 著「ア・リビジョン・オブ・ザ・ジーナス・トリコデルマ (A Revision of the Genus *Trichoderma*)」〔1986年、コモヌエルス・マイコロジカル・インスティチュート・キュー・サレイ・イングランド (Commonwealth Mycological Institute Kew, Surrey, England)〕を参照して、本菌株をトリコデルマ・オーレオビリデ (*Trichoderma aureoviride*) FL-42547株と同定した。本菌株は、平成5年8月17日に財団法人発酵研究所 (IFO) に受託番号IFO

10 32581として、また平成5年10月18日に通商産業省工業技術院生命工学工業技術研究所 (NIBH) に受託番号FERM BP-4444としてそれぞれ寄託されている。本発明の化合物TAN-1868を生産する微生物としてはアスペルギルス属に属し、TAN-1868を生産する能力を有する微生物であればいずれのものでもよい。その具体例として、例えば大阪府の土壤から新たに分離された糸状菌の一菌株FL-47958株があげられる。

【0045】本菌株は以下の性質を示す。

20 30 a) 形態的特徴

本菌株FL-47958は麦芽エキス寒天培地、パレイショ・ブドウ糖寒天培地やオートミール寒天培地等で良好に生育する。菌糸は隔壁を有しており、分生子柄が気生菌糸上に形成される。分生子柄はやや湾曲しており、80～160 μm の長さを示し、表面は平滑である。先端は肥大して頂のうとなる。頂のうは、直径1.5～2.0 μm の半球形で、上部1/2よりメトレを生じる。メトレは3.5～4.5 \times 1.5～2.0 μm の円筒形で、その上に瓶型で表面は滑面のフィアライド (5～6 $\mu\text{m} \times$

40 1.0～2.0 μm) が2～4本束生する。分生子 (2.0～2.5 $\mu\text{m} \times$ 1.0～2.0 μm) は球形から亜球形で連鎖し、その表面は平滑である。

b) 寒天培地上の性状

(1) 麦芽エキス寒天培地：24℃での生育は中程度で、コロニーの拡がりは極限的で、2週間後のコロニーの直径は35mmであった。表面は平坦で、中央部が幾分盛り上がったビロード状の菌糸体よりなり、外縁は規則正しく縁取られている。気生菌糸の発達は良好であるが、分生子の形成は悪い。中央部から周辺部にかけては淡灰白色ないし淡黄白色を呈する。裏面は中央部から周

辺部にかけて暗黄褐色ないし淡黄褐色を呈する。可溶性色素の生成は認められない。

(2) バレイショ・ブドウ糖寒天培地: 24℃での生育は中程度で、コロニーの拡がりは極限的で、2週間後のコロニーの直径は33mmであった。表面は平坦で、中央部が幾分盛り上がったピロード状の菌糸体よりなり、外縁はやや不規則に縁取られている。気生菌糸の発達は良好であるが、分生子の形成は悪い。中央部から中間部にかけては淡灰白色、周辺部は白色を呈する。裏面中央部は暗赤褐色ないし赤褐色、中間部は暗赤褐色、周辺部は淡黄褐色を呈する。可溶性色素の生成は認められない。

【0046】(3) オートミール寒天培地: 24℃での生育は中程度で、2週間後のコロニーの直径は30mmであった。表面はやや盛り上がった粉状からピロード状の菌糸体よりなり、中央部が幾分くぼみ、周辺部は薄くなっている。外縁は規則正しく縁取られている。気生菌糸の発達、分生子の形成は良好である。中央部は黄褐色でわずかに灰白色のまじりを呈し、中間部は環状に淡黄褐色、中間部から周辺部はクリーム色ないし淡灰白色を呈する。裏面中央部は淡黄褐色ないしクリーム色、中間部から周辺部にかけて淡黄褐色ないし象牙色を呈する。可溶性色素の生成は認められない。

c) 生理学的性状

本菌株の生育条件をバレイショ・ブドウ糖寒天培地で調べた。生育温度範囲は12~37℃で、至適温度は23~29℃であった。またpH3~pH12のいずれでも良好に生育した。以上の諸性質を基に、「かびの分離・培養と同定」(デー・マローチ (D. Malloch) 著、宇田川俊一訳、1983年、医歯薬出版株式会社)を参照すると、本菌株はアスペルギルス属に属することが明かとなり、本菌株をアスペルギルス エスピー(*Aspergillus sp.*) FL-47958株と称することにした。本菌株は、平成5年8月17日に財団法人発酵研究所(IFO)に受託番号IFO 32583として、また平成5年10月18日に通商産業省工業技術院生命工学工業技術研究所(NIBH)に受託番号FERM BP-4446としてそれぞれ寄託されている。

【0047】トリコデルマ属に属するTAN-1803生産菌およびアスペルギルス属に属するTAN-1868生産菌は、他の糸状菌の場合と同様に、たとえば紫外線、放射線などの照射、単細胞分離、種々の変異処理、その他の手段で変異させることができ、このような変異株あるいは自然に得られる突然変異株であっても、上記した分類学的性状との比較において実質的に別種とするに足らず、しかも当該化合物を生産する性質を有するものは、すべて本発明方法に利用し得る。TAN-1803生産菌およびTAN-1868生産菌の培養に用いられる培地は、前記したTAN-1756A, B, Cおよび/またはD生産菌およびTAN-1854Aおよび/

またはB生産菌の培養に用いられる培地と同様のものが用いられる。

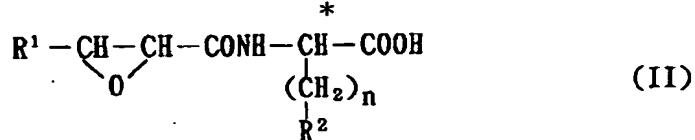
【0048】培養物から目的とする化合物TAN-1803またはTAN-1868を採取するには、微生物の生産する代謝物をその微生物培養物から採取するのに通常使用される分離手段が適宜利用される。TAN-1803は水溶性両性物質の性質、またTAN-1868は水溶性酸性物質の性質を示すので、これらの化合物は、前記したTAN-1756A, B, Cおよび/またはDおよびTAN-1854Aおよび/またはBの場合と同様にして採取される。

【0049】TAN-1803は両性物質なので、自体公知の方法によりナトリウム塩、カリウム塩などのアルカリ金属塩、カルシウム塩、マグネシウム塩などのアルカリ土類金属塩などの塩や、酸付加塩、とりわけ薬理学的に許容される酸付加塩としても得ることができ、たとえば、無機酸(例、塩酸、硫酸、リン酸)あるいは有機酸(例、酢酸、プロピオン酸、クエン酸、酒石酸、リノゴ酸、藤酸、メタンスルホン酸)などの塩が挙げられる。また、TAN-1868は酸性物質なので、自体公知の方法によりナトリウム塩、カリウム塩などのアルカリ金属塩、カルシウム塩、マグネシウム塩などのアルカリ土類金属塩などとして得ができる。

【0050】次に、上記化合物(I)またはその塩の製造法について述べる。なお、以下の本文中に常用される保護基および試薬を下記の略号で表記する。

Fmoc	: 9-フルオレニルメチルオキシカルボニル
Z	: ベンジルオキシカルボニル
Boc	: tert-ブロキシカルボニル
30 Bzl	: ベンジル
Ph	: フェニル
Trt	: トリチル
But	: プチリル
Ts	: p-トルエンスルホニル
TFA	: トリフルオロ酢酸
Tos	: p-トルエンスルホン酸
DCC	: N,N'-ジシクロヘキシルカルボジイミド
BOP	: ベンゾトリアゾール-1-イルオキシトリ
40 40 (ジメチルアミノ)ホスホニウム・ヘキサフルオロボスフェート	
DIC	: N,N'-ジイソプロピルカルボジイミド
HONB	: N-ヒドロキシ-5-ノルボルネン-2,3-ジカルボキシイミド
HOBt	: 1-ハイドロキシベンゾトリアゾール
WSC	: 水溶性カルボジイミド [1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド・塩酸塩]
R-	: R-配位
50 S-	: S-配位

【0051】前記一般式(1)で表わされる化合物またはその塩は、一般式



〔式中、R¹、R²およびnは前記と同意義を有する〕で表される化合物またはその塩と、一般式

【化10】



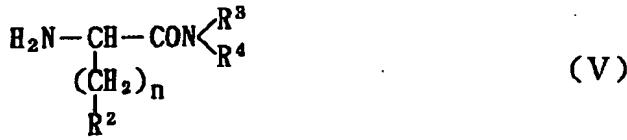
〔式中、R³およびR⁴は前記と同意義を有する〕で表される化合物またはその塩とを反応させ、要すれば脱保護基反応に付すことにより、あるいは一般式

【化11】



〔式中、R¹は前記と同意義を有する〕で表される化合物またはその塩と、一般式

【化12】



〔式中、R²、R³、R⁴およびnは前記と同意義を有する〕で表される化合物またはその塩とを、反応させ、要すれば脱保護基反応に付すことより製造することができる。

【0052】上記製造法は、例えば液相合成法、固相合成法等のペプチド合成の常套手段が用いられる。このようなペプチド合成の手段は、任意の公知の方法に従えばよく、たとえば、エム・ボンダスキー (M. Bondasky) およびエム・オンデッティ (M. Ondetti) 著、ペプチド・シンセシス (Peptide Synthesis) 、インターライエンス、ニューヨーク、1966年；エフ・エム・フィン (F. M. Finn) およびケー・ホフマン (K. Hofmann) 著、ザ・プロテインズ (The Proteins) 、第2巻、エイチ・ネンラース (H. Nenrath) 、アール・エル・ヒル (R. L. Hill) 編集、アカデミックプレスイング、ニューヨーク、1976年；泉屋信夫他著、「ペプチド合成の基礎と実験」丸善(株)1985年；矢島治明、榎原俊平他著、「生化学実験講座1」、日本生化学会編、東京化学同人、1977年；木村俊他著、「続生化学実験講座2」、日本生化学会編、東京化学同人、1987年；ジェイ・エム・スチワート (J. M. Stewart) およびジェイ・ディー・ヤング (J. D. Young) 著、ソリッド・フェイズ・ペプチド・シンセシス (Solid Phase Peptid

* 【化9】

※e Synthesis) 、ピアスケミカルカンパニー、イリノイ、1984年などに記載された方法またはそれに準じた方法により製造される。該方法の具体例として、例えば、化合物(II)またはその塩および化合物(IV)またはその塩のカルボン酸を活性化して化合物(III)またはその塩および化合物(V)またはその塩とそれぞれ縮合させるアシド法、クロライド法、酸無水物法、混合酸無水物法、DCC法、活性エスチル法、ウッドワード試薬Kを用いる方法、カルボニルイミダゾール法、酸化還元法、DCC/HONB法、DIC/HONB法、DCC/HOB T法、WSC/HOB T法、BOP試薬を用いる方法などが挙げられる。

【0053】原料の反応に関与すべきでない官能基の保護および保護基、ならびにその保護基の脱離、反応に関する官能基の活性化などもまた自体公知のものあるいは自体公知の手段から適宜選択しうる。本反応において、塩基の存在下実施される場合があり、用いられる塩基としては、例えば、トリメチルアミン、トリエチルアミン、トリプロピルアミン、N-メチルピペリジン、N-メチルピロリジン、シクロヘキシルジメチルアミン、N-メチルモルホリンなどの第三アミン、ジ-n-ブチルアミン、ジイソブチルアミン、ジシクロヘキシルアミンなどの第二アミン、ピリジン、ルチジン、コリジンなどの芳香族アミン、リチウム、ナトリウム、カリウムなどのアルカリ金属の水酸化物または塩、カルシウム、マグネシウムなどのアルカリ土類金属の水酸化物または塩などが用いられる。

【0054】本方法においては、化合物(III)または(V)1モルに対して化合物(II)または(IV)のカルボン酸の反応性誘導体をそれぞれ通常1モル用いるが、反応に支障のない限り過剰に用いることもできる。塩基を用いる場合、塩基の使用量は用いられる原料化合物、カルボン酸の反応性誘導体の種類、その他の反応条件によって異なるが、化合物(III)または(V)1モルに対して通常1ないし5モル、好ましくは約1ないし3モルである。本反応は通常反応に悪影響を及ぼさない溶媒中で行われる。該溶媒としては、ペプチド縮合反応に用いしうることが知られているものから適宜選択される。例えばホルムアミド、N,N-ジメチルホルムアミド、N-メチルピロリドンなどのアミド類、ジメチルスルホキサイドなどのスルホキシド類、ピリジンなどの芳香族アミン類、クロロホルム、ジクロロメタンなどのハロゲン化炭化水素類、テトラヒドロフラン、ジオキサンなどのエーテル類、アセトニトリルなどのニトリル類、

酢酸エチル、ギ酸エチルなどのエステル類、あるいはこれらの適宜の割合の混合物などが挙げられる。反応温度は、反応が進行する限り特に限定されないが、通常-50℃ないし150℃、好ましくは-30℃ないし80℃で行われる。反応時間は、用いられる原料、塩基、反応温度、溶媒の種類により異なるが、通常数十分から数十時間反応させる。

【0055】一般式(I)で表わされる化合物またはその塩は、要すれば上記の方法により製造した化合物またはその塩を脱保護基反応に付すことにより製造することができる。脱保護基反応は自体公知の方法、例えばペプチド化学に常用の方法により行うことができる。【泉屋信夫、大野素徳、加藤哲夫、青柳東彦著、「合成化学シリーズ、ペプチド合成」、丸善株式会社発行、1975年参照】

ウレタン型保護基で保護されたアミノ基の脱保護基反応は、無溶媒もしくは反応に悪影響を与えない溶媒中で、酸と接触することにより行われる。該溶媒としては、ハロゲン化炭化水素類(例、ジクロロメタン、クロロホルム、1,2-ジクロロエタンなど)、アルコール類(例、メタノール、エタノールなど)、水およびこれらの適宜の割合の混合物が用いられる。酸としては、例えばハロ酢酸(例、トリフルオロ酢酸など)、ハロゲン化水素酸(例、塩化水素酸、臭化水素酸など)等が用いられる。N-ベンジルオキシカルボニル(Z)基、N-4-メトキシベンジルオキシカルボニル基は、例えばパラジウム触媒(例、パラジウム/硫酸バリウム、パラジウム活性炭素、パラジウム黒等)、ロジウム触媒等を用いて接触水素添加によって除去するのが有利である。反応は、反応に悪影響を与えない溶媒中で行われる。該溶媒としては、例えばアミド類(例、N,N-ジメチルホルムアミド、アセトアミドなど)、アルコール類(例、メタノール、エタノールなど)、環状エーテル(例、テトラヒドロフランなど)、有機カルボン酸(例、酢酸、プロピオン酸など)、水等、もしくはこれらの適宜の割合の混合物が用いられる。

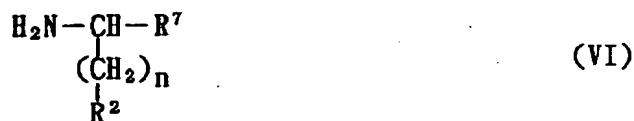
【0056】N-9-フルオレニルメチルオキシカルボニル(Fmoc)基は、例えばジエチルアミン、ピペリジン、モルホリン、4-ジメチルアミノピリジン、ジシクロヘキシルアミンなどの有機アミン類を用いて除去するのが有利である。反応は、反応に悪影響を与えない溶媒中で行われる。該溶媒としては、例えばアミド類(例、N,N-ジメチルホルムアミド、アセトアミドなど)、アルコール類(例、メタノール、エタノールなど)等、もしくはこれらの適宜の割合の混合物が用いられる。N-2,2,2-トリクロロエチルオキシカルボニル基は、有機カルボン酸(例、酢酸、プロピオン酸など)と共に、金属(例、亜鉛など)を用いて除去するのが有利である。反応は、反応に悪影響を与えない溶媒中で行われる。該溶媒としては、上記有機カルボン酸、アルコ-

ル類(例、メタノール、エタノールなど)、水等、もしくはこれらの適宜の割合の混合物が用いられる。アシル化ヒドロキシ基の脱保護基反応(脱アシル化反応)は、反応に悪影響を与えない溶媒中で、酸と接触することにより行われる。該溶媒としては、ハロゲン化炭化水素類(例、ジクロロメタン、クロロホルム、1,2-ジクロロエタンなど)、アルコール類(例、メタノール、エタノールなど)、水およびこれらの適宜の割合の混合物が用いられる。酸としては、例えばハロ酢酸(例、トリフルオロ酢酸など)、ハロゲン化水素酸(例、塩化水素酸、臭化水素酸など)等が用いられる。

【0057】O-ベンジル(BzI)基は、例えばパラジウム触媒(例、パラジウム/硫酸バリウム、パラジウム活性炭素、パラジウム黒)又はロジウム触媒を用いて接触水素添加によって除去するのが有利である。その際文献から公知の溶剤、例えば環状エーテル(例、テトラヒドロフランなど)を場合により他の不活性溶剤(例、低級脂肪族酸アミド(例、ジメチルホルムアミドなど)と混合して使用する。O-テトラヒドロピラニル基またはO-tert-ブチル基は、上記脱アシルと同様に、酸による加水分解により行うことができる。カルボキシル保護基の脱離は、上記と同様に、酸による加水分解により行うことができる。また、例えばベンジルエステルは、前記のO-ベンジル基脱離の場合と同様に接触水素添加によって脱離することができる。さらに、例えばメチルエステル、エチルエステルは、反応に悪影響を与えない溶媒中で塩基と接触することによって脱離することができる。該溶媒としては、アルコール類(例、メタノール、エタノールなど)、環状エーテル類(例、テトラヒドロフラン)、水およびこれらの適宜の割合の混合物が用いられる。塩基としては、例えば水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、炭酸ナトリウム、炭酸カリウム等が用いられる。2-(トリメチルシリル)エチル基は中性条件下に、例えば弗化水素酸の塩、例えば特に第四級窒素塩基と弗化水素酸の塩(例、テトラエチルアンモニウムフルオリドなど)を適当な溶媒中で作用させることによって脱離させることができる。

【0058】このようにして製造された化合物(I)またはその塩は、反応終了後、ペプチドの分離手段、例えば抽出、分配、再沈殿、結晶化、再結晶、各種クロマトグラフィー、高速液体クロマトグラフィーなどによって採取される。上記化合物(II)またはその塩は、化合物(IV)またはその塩と一般式

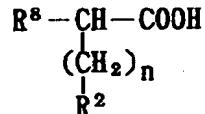
【化13】



[式中、R²およびnは前記と同意義を有し、R⁷は保護されたカルボキシル基を示す]で表される化合物または

その塩とを、前述と同様なペプチド合成の常套手段を用いて縮合させ、カルボキシル基の保護基を脱保護することにより製造することができる。

【0059】上記R'で表される保護されたカルボキシル基におけるカルボキシル基の保護基としては、例えは(1)(a)ハロゲン原子(例、塩素、臭素、フッ素等)、(b)炭素数2ないし7のアルカノイル基(例、アセチル、プロピオニル、ブチリル、バレリル等)及び(c)ニトロ基等から選ばれる1ないし3個の置換基を有してもよい炭素数1ないし6のアルキル基(例、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、sec-ブチル、tert-ブチル、ペンチル、イソペンチル、sec-ペンチル、ネオペンチル、tert-ペンチル、ヘキシル等)、(2)(a)ハロゲン原子(例、塩素、臭素、フッ素等)、(b)炭素数1ないし6のアルコキシ基(例、メトキシ、エトキシ、プロポキシ、イソプロポキシ、ブトキシ、イソブトキシ、sec-ブトキシ等)及び(c)ニトロ基等から選ばれる1ないし



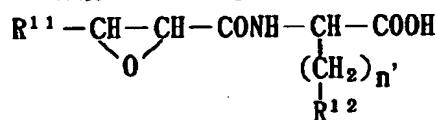
【式中、R'およびnは前記と同意義を有し、R⁸は保護されたアミノ基を示す】で表される化合物またはその塩と、化合物(III)またはその塩とを、前述と同様なペプチド合成の常套手段を用いて縮合させ、アミノ基の保護基を脱保護することにより製造することができる。上記R⁸で表される保護されたアミノ基におけるアミノ基の保護基は、前記R'で表される保護されていてもよい

※アミノ基で置換された炭化水素残基におけるアミノ基の保護基と同意義を有する。

【0060】以下に、化合物(XI)またはその塩の製造法について述べる。一般式(XI)で表わされる化合物またはその塩は、一般式

【化14】

(VII)



(XII)

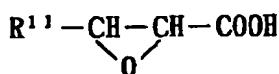
【式中、R¹¹、R¹²およびn'は前記と同意義を有する】で表される化合物またはその塩と、一般式

【化16】



★【式中、R¹¹およびR¹²は前記と同意義を有する】で表される化合物またはその塩とを反応させ、要すれば脱保護基反応に付すことにより、あるいは一般式

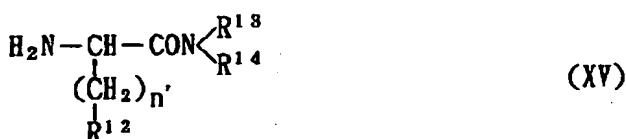
【化17】



(XIV)

【式中、R¹¹は前記と同意義を有する】で表される化合物またはその塩と、一般式

【化18】



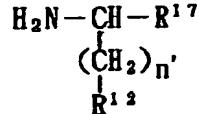
★【式中、R¹¹、R¹²、R¹³およびn'は前記と同意義を有する】で表される化合物またはその塩とを、反応させ、要すれば脱保護基反応に付すことにより製造することができる。

【0062】本製造法において、化合物(XII)と化合物(XIII)との反応は前述の化合物(II)と化合物(II)

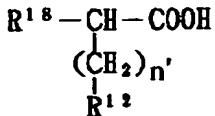
Iとの反応と同様にして行われる。また、化合物(XI)と化合物(XV)との反応は前述の化合物(IV)と化

41

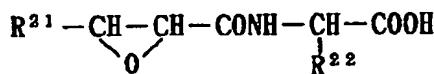
合物(V)との反応と同様にして行われる。さらに、脱保護基反応も前記した化合物(I)の製造法と同様にして行われる。このようにして製造された化合物(XI)またはその塩は、反応終了後、ペプチドの分離手段、例えば抽出、分配、再沈殿、結晶化、再結晶、各種クロマト*



[式中、R¹²およびn'は前記と同意義を有し、R¹²は保護されたカルボキシル基を示す]で表される化合物またはその塩とを、前述と同様なペプチド合成の常套手段を用いて縮合させ、カルボキシル基の保護基を脱保護することにより製造することができる。R¹²で表される保※



[式中、R¹²およびn'は前記と同意義を有し、R¹⁸は保護されたアミノ基を示す]で表される化合物またはその塩と、化合物(XIII)またはその塩とを、前述と同様なペプチド合成の常套手段を用いて縮合させ、アミノ基の保護基を脱保護することにより製造することができる。上記R¹⁸で表される保護されたアミノ基におけるアミノ基の保護基は、前記R¹²で表される保護されていて★



(XVI)

*護されたカルボキシル基におけるカルボキシル基の保護基は、R¹²で表される保護されたカルボキシル基におけるカルボキシル基の保護基と同様のものが用いられる。上記化合物(XV)またはその塩は、一般式

【化20】

(XVII)

★もよいアミノ基で置換された炭化水素残基におけるアミノ基の保護基と同意義を有する。

【0064】次に、上記化合物(XXI)またはその塩の製造法について述べる。前記一般式(XXI)で表わされる化合物またはその塩は、一般式

【化21】

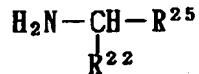
(XXII)

★る。

30 【0065】本製造法において、化合物(XXII)と化合物(XXIII)との反応は前述の化合物(II)と化合物(I)との反応と同様にして行われる。また、化合物(XXIV)と化合物(XXV)との反応は前述の化合物(IV)と化合物(V)との反応と同様にして行われる。さらに、脱保護基反応も前記した化合物(I)の製造法と同様にして行われる。このようにして製造された化合物(XXI)またはその塩は、反応終了後、ペプチドの分離手段、例えば抽出、分配、再沈殿、結晶化、再結晶、各種クロマトグラフィー、高速液体クロマトグラフィーなどによって採取される。

【0066】上記化合物(XXII)またはその塩は、化合物(XXIV)またはその塩と一般式

【化25】



(XXVI)

[式中、R²⁵は前記と同意義を有し、R²²は保護されたカルボキシル基を示す]で表される化合物またはその塩とを、前述と同様な製造法を用いて縮合させ、カルボキシル基の保護基を脱保護することにより製造することができる。

☆50

できる。上記R²⁶で表される保護されたカルボキシル基におけるカルボキシル基の保護基としては、前記R¹で表される保護されたカルボキシル基における保護基と同意義を有する。上記化合物(XXV)またはその塩は、一般式

【化26】



〔式中、R²⁶は前記と同意義を有し、R²²は保護されたアミノ基を示す〕で表される化合物またはその塩と、化合物(XXIII)またはその塩とを、前述と同様な製造法を用いて縮合させ、アミノ基の保護基を脱保護することにより製造することができる。上記R²⁶で表される保護されたアミノ基におけるアミノ基の保護基は、前記R¹で表される保護されていてもよいアミノ基で置換された炭化水素残基におけるアミノ基の保護基と同意義を有する。

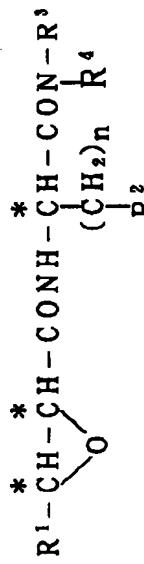
* 【0067】本発明の化合物(I)は自体公知の方法によりナトリウム塩、カリウム塩などのアルカリ金属塩、カルシウム塩、マグネシウム塩などのアルカリ土類金属塩などの塩や、酸付加塩、とりわけ薬理学的に許容される酸付加塩としても得ることができ、例えば無機酸(例、塩酸、硫酸、リン酸)あるいは有機酸(例、酢酸、プロピオン酸、クエン酸、酒石酸、リンゴ酸、薔薇酸、メタンスルホン酸、オクタノンスルホン酸)などの塩があげられる。また、化合物(II)から(VII)の塩も

10 また、化合物(I)の塩と同様なものが用いられる。本発明の化合物(XI)および化合物(XII)から(XVII)の塩もまた、化合物(I)の塩と同様なものが用いられる。本発明の化合物(XXI)および化合物(XXII)から(XXVII)の塩もまた、化合物(I)の塩と同様なものが用いられる。後述の実施例によって得られた化合物の構造式を下記に示す。

【0068】

【表1】

*



化合物番号	実施例番号	(#, *, *)	n	R ¹	R ²	R ³	R ⁴
1	2	(S, S, S)	1	COOH	Ph	H	(CH ₂) ₄ NH ₂
2	2	(S, S, S)	1	COOH	4-OH-Ph	H	(CH ₂) ₄ NH ₂
3	4	(S, S, S)	1	COOH	Ph	(CH ₂) ₃ NH ₂	(CH ₂) ₄ NH ₂ • HC β
4	4	(S, S, S)	1	COOH	4-OH-Ph	(CH ₂) ₃ NH ₂	(CH ₂) ₄ NH ₂ • HC β
5	5	(S, S, S)	1	COOC ₂ H ₅	Ph	H	(CH ₂) ₄ NH ₂
6	6	(S, S, S)	1	COOH	Ph	H	(CH ₂) ₄ NH ₂
7	8	(S, S, S)	1	COOC ₂ H ₅	4-(OBzI)-Ph	H	(CH ₂) ₄ NH ₂
8	9	(S, S, S)	1	COOH	4-(OBzI)-Ph	H	(CH ₂) ₄ NH ₂
9	1 1	(S, S, R)	1	COOC ₂ H ₅	Ph	H	(CH ₂) ₄ NH ₂
1 0	1 2	(S, S, R)	1	COOH	Ph	H	(CH ₂) ₄ NH ₂
1 1	1 3	(S, S, R)	1	COOH	Ph	H	(CH ₂) ₄ NH ₂
1 2	1 4	(R, R, S)	1	COOCH ₃	Ph	H	(CH ₂) ₄ NH ₂
1 3	1 5	(R, R, S)	1	COOH	Ph	H	(CH ₂) ₄ NH ₂
1 4	1 6	(R, R, S)	1	COOH	Ph	H	(CH ₂) ₄ NH ₂
1 5	1 7	(S, S, S)	1	COOC ₂ H ₅	3-indolyl	H	(CH ₂) ₄ NH ₂

[0069]

【表2】

化合物番号	実施例番号	(*, #, *)	n	R ¹	R ²	R ³	R ⁴
1 6	1 8	(S, S, S)	1	COOH	3-indolyl	H	(CH ₂) ₄ NHZ
1 7	1 9	(S, S, S)	1	COOH	3-indolyl	H	(CH ₂) ₄ NH ₂
1 8	2 0	(S, S, S)	1	COOC ₂ H ₅	Ph	H	(CH ₂) ₂ NHZ
1 9	2 1	(S, S, S)	1	COOH	Ph	H	(CH ₂) ₂ NH ₂
2 0	2 2	(S, S, S)	1	COOH	Ph	H	(CH ₂) ₂ NH ₂
2 1	2 3	(S, S, S)	1	COOC ₂ H ₅	Ph	H	(CH ₂) ₆ NHZ
2 2	2 4	(S, S, S)	1	COOH	Ph	H	(CH ₂) ₆ NH ₂
2 3	2 5	(S, S, S)	1	COOH	Ph	H	(CH ₂) ₆ NH ₂
2 4	2 6	(S, S, S)	1	COOC ₂ H ₅	Ph	-(CH ₂) ₂ N(CH ₃)(CH ₂) ₂ -	
2 5	2 7	(S, S, S)	1	COOH	Ph	-(CH ₂) ₂ N(CH ₃)(CH ₂) ₂ -	
2 6	2 8	(S, S, S)	1	COOC ₂ H ₅	Ph	-(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ -	
2 7	2 9	(S, S, S)	1	COONa	Ph	-(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ -	
2 8	3 0	(S, S, S)	1	COOC ₂ H ₅	Ph	H	(CH ₂) ₄ NHAC
2 9	3 1	(S, S, S)	1	COONa	Ph	H	(CH ₂) ₄ NH(CH ₂) ₃ NH ₂ · 1/2H ₂ SO ₄
3 0	3 4	(S, S, S)	1	COOH	Ph	H	(CH ₂) ₄ NH(CH ₂) ₃ NH ₂ · 1/2H ₂ SO ₄
3 1	3 4	(S, S, S)	1	COOC ₂ H ₅	Ph	H	(CH ₂) ₄ NHTs
3 2	3 5	(S, S, S)	1	COONa	Ph	H	(CH ₂) ₄ NHTs
3 3	3 6	(S, S, S)	1	COOC ₂ H ₅	Ph	H	(CH ₂) ₄ NHBut
3 4	3 7	(S, S, S)	1	COOC ₂ H ₅	Ph	H	(CH ₂) ₄ NHBut

【0070】

【表3】

化合物番号	実施例番号	(*, *, *)	n	R ¹	R ²	R ³	R ⁴
3 5	3 8	(S, S, S)	1	COONa	Ph	H	(CH ₂) ₄ NHBut
3 6	3 9	(S, S, S)	1	COOC ₂ H ₅	2-F-Ph	H	(CH ₂) ₄ NHZ
3 7	4 0	(S, S, S)	1	COOH	2-F-Ph	H	(CH ₂) ₄ NHZ
3 8	4 1	(S, S, S)	1	COOH	2-F-Ph	H	(CH ₂) ₄ NH ₂
3 9	4 2	(S, S, S)	1	COOC ₂ H ₅	5-(1-Ts-imidazolyl)	H	(CH ₂) ₄ NHZ
4 0	4 3	(S, S, S)	1	COOH	5-imidazolyl	H	(CH ₂) ₄ NHZ
4 1	4 4	(S, S, S)	1	COOH	5-imidazolyl	H	(CH ₂) ₄ NH ₂
4 2	4 5	(S, S, S)	4	COOC ₂ H ₅	NHZ	H	(CH ₂) ₄ NHZ
4 3	4 6	(S, S, S)	4	COOH	NHZ	H	(CH ₂) ₄ NHZ
4 4	4 7	(S, S, S)	1	COOC ₂ H ₅	OBzI	H	(CH ₂) ₄ NHZ
4 5	4 8	(S, S, S)	1	COOH	OBzI	H	(CH ₂) ₄ NHZ
4 6	4 9	(S, S, S)	1	COOH	OBzI	H	(CH ₂) ₄ NH ₂
4 7	4 9	(S, S, S)	1	COOH	OH	H	(CH ₂) ₄ NH ₂
4 8	5 0	(S, S, S)	1	COOC ₂ H ₅	STrt	H	(CH ₂) ₄ NHBoc
4 9	5 1	(S, S, S)	1	COOH	STrt	H	(CH ₂) ₄ NHBoc
5 0	5 2	(S, S, S)	1	COOH	STrt	H	(CH ₂) ₄ NH ₂
5 1	5 3	(S, S, S)	2	COOC ₂ H ₅	CONH ₂	H	(CH ₂) ₄ NHZ
5 2	5 4	(S, S, S)	2	COOH	CONH ₂	H	(CH ₂) ₄ NHZ

【0071】

【表4】

化合物番号	実施例番号	(*, †, ‡)	n	R ¹	R ²	R ³	R ⁴
5 3	5 5	(S, S)	2	COOH	CONH ₂	H	(CH ₂) ₄ NH ₂
5 4	5 6	(S, S)	2	COOC ₂ H ₅	COOBz	H	(CH ₂) ₄ NHZ
5 5	5 7	(S, S)	2	COOCH ₃	COOCH ₃	H	(CH ₂) ₄ NHZ
5 6	5 8	(S, S)	1	COOC ₂ H ₅	Ph	H	(CH ₂) ₄ NH ₂ • 1/2H ₂ SO ₄
5 7	5 9	(S, S)	1	COOC ₂ H ₅	Ph	H	(CH ₂) ₄ NH ₂ • C ₈ H ₁₇ SO ₃ H
5 8	6 0	(S, S)	1	COOC ₂ H ₅	4-(OBz)-Ph	-(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ -	
5 9	6 1	(S, S)	1	COOC ₂ H ₅	4-OH-Ph	-(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ -	
6 0	6 2	(S, S)	1	COONa	4-OH-Ph	-(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ -	
6 1	6 3	(S, S)	1	COOC ₂ H ₅	3, 4-di-OH-Ph	-(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ -	
6 2	6 4	(S, S)	1	COONa	3, 4-di-OH-Ph	-(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ -	
6 3	6 5	(S, S)	0	COOC ₂ H ₅	Ph	-(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ -	
6 4	6 6	(S, S)	0	COONa	Ph	-(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ -	
6 5	6 7	(S, S)	2	COOC ₂ H ₅	Ph	-(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ -	
6 6	6 8	(S, S)	2	COONa	Ph	-(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ -	
6 7	6 9	(S, S)	1	COOC ₂ H ₅	4-Cl-Ph	-(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ -	
6 8	7 0	(S, S)	1	COONa	4-Cl-Ph	-(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ -	
6 9	7 1	(S, S)	1	COOC ₂ H ₅	4-F-Ph	-(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ -	
7 0	7 2	(S, S)	1	COONa	4-F-Ph	-(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ -	
7 1	7 3	(S, S)	1	COOC ₂ H ₅	4-NO ₂ -Ph	-(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ -	

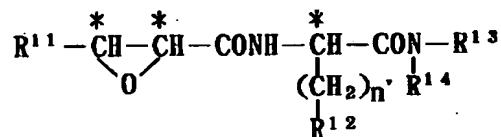
【0072】

【表5】

化合物番号	実施例番号	(*, *, *)	n	R ¹	R ²	R ³	R ⁴
72	74	(S, S, S)	1	COONa	4-NO ₂ -Ph	-(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ -	
73	75	(S, S, S)	1	COOC ₂ H ₅	2-Thienyl	-(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ -	
74	76	(S, S, S)	1	COONa	2-Thienyl	-(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ -	
75	77	(S, S, S)	1	COOC ₂ H ₅	Cyclohexyl	-(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ -	
76	78	(S, S, S)	1	COONa	Cyclohexyl	-(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ -	
77	79	(S, S, S)	1	COOC ₂ H ₅	4-(OCH ₃)-Ph	-(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ -	
78	80	(S, S, S)	1	COONa	4-(OCH ₃)-Ph	-(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ -	
79	81	(S, S, S)	1	COOC ₂ H ₅	1-Naphthyl	-(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ -	
80	82	(S, S, S)	1	COONa	1-Naphthyl	-(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ -	
81	83	(S, S, S)	1	COOC ₂ H ₅	2-Naphthyl	-(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ -	
82	84	(S, S, S)	1	COONa	2-Naphthyl	-(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ -	
83	85	(S, S, S)	1	COOC ₂ H ₅	Ph	-(CH ₂) ₂ S(CH ₂) ₂ -	
84	86	(S, S, S)	1	COONa	Ph	-(CH ₂) ₂ S(CH ₂) ₂ -	
85	87	(S, S, S)	1	CONHC ₂ H ₅	Ph	H (CH ₂) ₄ NHZ	
86	88	(S, S, S)	1	COOC ₂ H ₅	Ph	H CH ₂ CH=CH ₂	
87	89	(S, S, S)	1	COONa	Ph	H CH ₂ CH=CH ₂	

【0073】

【表6】



化合物番号	実施例番号	(*, *, *)	n	R ¹¹	R ¹²	R ¹³	R ¹⁴
88	90	(S, S, S)	1	COOC ₂ H ₅	3-Indolyl	H (CH ₂) ₂ CH(CH ₃) ₂	
89	91	(S, S, S)	1	COONa	3-Indolyl	H (CH ₂) ₂ CH(CH ₃) ₂	
90	92	(S, S, S)	1	COOC ₂ H ₅	2-Naphthyl	H (CH ₂) ₂ CH(CH ₃) ₂	
91	93	(S, S, S)	1	COOH	2-Naphthyl	H (CH ₂) ₂ CH(CH ₃) ₂	

【0074】

【表7】

55



56

化合物番号	実施例番号	(*, *, *)	R ²¹	R ²²	R ²³	R ²⁴
92	95	(S, S, S)	COOH	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	(CH ₂) ₃ NH ₂	(CH ₂) ₄ NH ₂ ·HCl
93	96	(S, S, S)	COOC ₂ H ₅	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	(CH ₂) ₃ NHZ	(CH ₂) ₄ NHZ
94	97	(S, S, S)	COOH	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	(CH ₂) ₃ NHZ	(CH ₂) ₄ NHZ

ただし、SおよびRは当該記号が付された炭素原子がそれぞれSおよびR配位であることを、Phはフェニル基を、4-OH-Phは4-ヒドロキシフェニル基を、4-(OBz1)-Phは4-ベンジルオキシフェニル基を、Acはアセチル基を示す。

【0075】次に本発明化合物の生物活性について記載する。本発明の化合物(I), (XI)および(XXI)またはそれらの塩は、強いチオールプロテアーゼ阻害作用を示すが、下記の方法により、カテプシンLおよびカテプシンBに対する阻害活性を測定し、その結果を【表8】に示した。

(a) カテプシンL阻害活性測定法

ヒト組換えカテプシンL(後述の参考例1~7により製造したもの用いた)1ng、2μMのジチオスレイトール(以下、DTTと略す)、1mMのエチレンジアミンテトラアセテート2ナトリウム塩、0.1Mの酢酸ナトリウム緩衝液(pH5.5)および種々の濃度の検体を含む反応液75μlに20μMのベンジルオキシカルボニル-L-フェニルアラニル-L-アルギニン-4-メチルクマリル-7-アミド(以下、Z-Ph-e-Ar-g-7MCAと略す、ペプチド研究所製)25μlを加えて反応を開始し、37℃で20分間保温した後、100mMのモノクロロ酢酸ナトリウムを含む反応停止液100μlを加えた。遊離した4-メチル-7-アミノクマリンの量を蛍光光度計(FCA:バクスター社製)を用いて励起波長365nm、蛍光波長450nmで測定した。なお、検体を加えないで同様に反応させたものの蛍光測定値を100%とし、50%阻害に必要な検体の濃度をIC₅₀値として示した。

【0076】(b) カテプシンB阻害活性測定法

カテプシンB(シグマ社製)30ng、2μM DTT、1mM エチレンジアミンテトラアセテート2ナトリウム塩、0.1M 酢酸ナトリウム緩衝液(pH5.5)および種々の濃度の検体を含む反応液75μlに20μMのZ-Ph-e-Ar-g-7MCAを25μl加えて反応を開始し、37℃で20分間保温した後、100

* mMのモノクロロ酢酸ナトリウムを含む反応停止液を100μl加えた。遊離した4-メチル-7-アミノクマリンの量を蛍光光度計を用いて励起波長365nm、蛍光波長450nmで測定した。なお、検体を加えないで同様に反応させたものの蛍光測定値を100%とし、50%阻害に必要な各検体の濃度をIC₅₀値として示した。

【表8】

化合物番号	カテプシンL	カテプシンB
23	2	24
37	1	14
82	2	34

【0077】さらに、本発明の化合物(I), (XI)および(XXI)またはそれらの塩は、すぐれた骨吸収抑制作用を有するが、本発明の化合物(I), (XI)および(XXI)またはそれらの塩の、PTH(副甲状腺ホルモン)により増強された骨吸収に対する抑制作用を下記の方法により測定した。その結果を【表9】に示した。

骨吸収抑制活性の測定法

8~10週齢の雌BALB/cマウスの大脳骨を無菌的に摘出し、10重量%熱不活化牛胎仔血清、ペニシリング100単位/m1、ストレプトマイシン100単位/m1を含むハムF12培地(以下、培養液と称する)にて骨髄腔を洗浄した後、培養液1mlあたり骨を1本づつ加えて、37℃、5%炭酸ガス、95%空気の条件下で3時間前培養した。この骨をPTH(ペプチド研究所製、終濃度1μM)および試験化合物(終濃度10μg/m1)を加えた1mlの培養液に移し、さらに7日間培養後、培養液中に蓄積したカルシウムの総量をカルシウムE-テストワコー(和光純薬社製)で測定した。試験化合物の骨吸収抑制活性は、以下の式により求めた。

$$\text{骨吸収抑制活性 (\%)} = 100 \times (C_p - C_s) / (C_p - C_c)$$

C_c: PTH 及び試験化合物のいずれも含まない培養液中の総カルシウム量

C_p : PTH を加えたときの培養液中の総カルシウム量
C_s : PTH及び試験化合物の両方を加えたときの培養液中の総カルシウム量

【0078】

【表9】

化合物番号	骨吸収抑制活性 (%)
1	150
92	149

毒性試験

TAN-1756Aをマウスに 400 mg/kg 腹腔内投与あるいは経口投与しても死亡例を認めなかつた。TAN-1803の一塩酸塩をマウスに 400 mg/kg 腹腔内投与あるいは経口投与しても死亡例を認めなかつた。

【0079】このように、化合物(I), (XI) および (XXI) またはそれらの塩は、カテプシンIおよびカテプシンB等のチオールプロテアーゼに対する阻害作用を有し、チオールプロテアーゼに由来する疾患(例、筋ジストロフィー症、空胞型ジスタールミオパチー等)の予防および治療剤として有用なチオールプロテアーゼ阻害剤として用いられる。また、チオールプロテアーゼを阻害する物質は抗炎症作用を有するので、本発明のチオールプロテアーゼ阻害剤は、抗炎症剤としても用いられる。さらに、化合物(I), (XI) および (XXI) またはそれらの塩は、骨吸収抑制作用を有し、骨粗鬆症、悪性高カルシウム血症、ページェット病等の骨疾患の予防および治療剤として用いられる。化合物(I), (XI) および (XXI) またはそれらの塩は、毒性も低く、哺乳動物(例、イヌ、ネコ、ウマ、ウシ、サル、ヒトなど)に対し、安全に用いられる。化合物(I) またはその塩を、例えばヒトに投与する場合は、それ自体あるいは適宜の薬理学的に許容される担体、賦形剤、希釈剤と混合し、医薬組成物として経口的または非経口的に安全に投与することができる。上記医薬組成物としては、例えば注射剤などの非経口投与製剤、経口投与製剤(例、散剤、顆粒剤、カプセル剤、錠剤)などが挙げられる。これらの製剤は、製剤工程において通常一般に用いられる自体公知の方法により製造することができる。例えば化合物(I) またはその塩は、分散剤(例、ツイーン(Tween) 80(アトラスパウダー社製、米国), HCO 60(日光ケミカルズ製)、ポリエチレングリコール、カルボキシメチルセルロース、アルギン酸ナトリウムなど)、保存剤(例、メチルパラベン、プロピルパラベン、ベンジルアルコール、クロロブタノールなど)、等張化剤(例、塩化ナトリウム、グリセリン、ソルビトール、ブドウ糖など)などと共に水性注射剤に成形し、注射剤とすることができます。

【0080】また、経口投与製剤にするには、自体公知の方法に従い、化合物(I) またはその塩をたとえば賦形剤(例、乳糖、白糖、デンプンなど)、崩壊剤(例、

炭酸カルシウムなど)、結合剤(例、アラビアゴム、カルボキシメチルセルロース、ポリビニールピロリドン、ヒドロキシプロピルセルロースなど)または滑沢剤(例、タルク、ステアリン酸マグネシウム、ポリエチレングリコール6000など)などを添加して圧縮成形し、次いで必要により、味のマスキング、腸溶性あるいは持続性の目的のため自体公知の方法でコーティングすることにより経口投与製剤とすることができます。そのコーティング剤としては、例えばエチルセルロース、ヒドロキシメチルセルロース、ポリオキシエチレングリコール、セルロースアセテートフタレート、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレートおよびオイドラギット(ローム社製、ドイツ、メタアクリル酸・アクリル酸共重合)などが用いられる。化合物(I) またはその塩を、例えばヒトに用いる場合の投与量は、対象の疾患、投与経路、治療する患者個々の年齢及び疾病の程度によって変動し得るが、通常、体重50kgの成人患者に経口投与する場合有効成分1日約1mg~2g、好ましくは約10mg~2g、さらに好ましくは約20mg~1gが疾患の治療に用いられる。

【0081】本発明において、化合物(XI) またはその塩を、例えばヒトに投与する場合は、前記した化合物(I) またはその塩と同様にして、それ自体あるいは適宜の薬理学的に許容される担体、賦形剤、希釈剤と混合し、医薬組成物として経口的または非経口的に安全に投与することができる。また、化合物(XI) またはその塩を、例えばヒトに用いる場合の投与量は、前記した化合物(I) またはその塩と同様である。本発明において、化合物(XXI) またはその塩を、例えばヒトに投与する場合は、前記した化合物(I) またはその塩と同様にして、それ自体あるいは適宜の薬理学的に許容される担体、賦形剤、希釈剤と混合し、医薬組成物として経口的または非経口的に安全に投与することができる。また、化合物(XXI) またはその塩を、例えばヒトに用いる場合の投与量は、前記した化合物(I) またはその塩と同様である。

【0082】

【実施例】以下に参考例、実施例、製剤例を挙げて、本発明を更に具体的に説明するが、これによって本発明が限定されるものではない。なお、パーセント(%)は、特に断りのない限り、重量/容量パーセントを表す。混合溶媒において混合比を示した数値は各溶媒の容量混合比である。NMRスペクトルは、ブルカーAC-300型スペクトルメーターを用いて測定した。内部基準として、¹³C-NMRスペクトルではジオキサン(δ 69.5 ppm), ¹H-NMRスペクトルでは、重水中で3-(トリメチルシリル)プロピオン酸-d₄・ナトリウム塩、他の溶媒中でテトラメチルシランを用い、全 δ 値をppmで示した。また、本明細書中の記号は次のような意味を有する。Q: 4級炭素, CH: メチル, CH₂: メチレン, CH

:メチル, s:シングレット, d:ダブルレット, t:トリプレット, q:クワルテット, dd:ダブルダブルレット, d_t:ダブルトリプレット, ddd:ダブルダブルダブルレット, ddt:ダブルダブルトリプレット, m:マルチプレット, br.:幅広い, CDC1:重クロロホルム, DMSO-d₆:重ジメチルスルホキシド, D₂O:重水

【0083】参考例1 (ヒト腎臓由来カテプシンLのcDNAクローニング)

ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)法によってヒトカテプシンcDNAを増幅させるため、既報のヒト腎臓由来カテプシンLの塩基配列(エス・ガル(S. Gal)とエム・エム・ゴッテスマン(M. M. Gottesman),バイオケミカル・ジャーナル(Biochem. J.),253巻,303頁(1988))を参考にして以下に示す4種類のプライマーを合成した。

センス・プライマーNo.1:

5'-TTTCAGGGGGCAGTAAGAT-3'

センス・プライマーNo.2:

5'-pCCGGATCCGGCTTTAGGATTGGTCTA-3'

アンチセンス・プライマーNo.3:

5'-GGGGCTGGTAGACTGAAAGA-3'

アンチセンス・プライマーNo.4:

5'-pCCGGATCCATTCTCCATGCGATGCGCC-3'

ヒト腎臓由来cDNAライブラーλgt11溶液[クローンテク・ラボラトリーズ・インコーポレーテッド(CLONTECH Laboratories, Inc.)]3μlと蒸留水50μlとを混合し、95℃で5分間保温した後、氷中で急冷した。2種類のプライマー(上記No.1とNo.3;各50pmol)を加え、シータス/パーキンエルマー(Cetus/Perkin-Elmer)より供給されたキットの指示書に従い、94℃、1分間、55℃、2分間、72℃、3分間の反応を50回繰り返す反応を行った。さらに、その反応液に別の2種類のプライマー(上記No.2とNo.4;各50pmol)を加え、同様に反応を行った。PCR産物を1.2%アガロースゲル電気泳動で分離したところ、ヒト腎臓由来カテプシンL塩基配列から予想される大きさ(1132bp)に相当する位置に、増幅されたDNA断片を確認した。このDNA断片をゲルから回収し、プラスミドベクターpBluescript[®] II SK+ [ストラタジーン(STRATAGENE)社製]にサブクローニングした。cDNA部分の塩基配列をジデオキシヌクレオチド合成鎖停止法(ジェイ・メシング(J. Messing)ら、ヌクレオティック・アシッド・リサーチ(Nucleic Acid Res.), 9, 309, (1981))により決定し、既報の配列と同一のものであることを確認した。このcDNA断片を含むプラスミドを、pHCL-5と命名した。

【0084】参考例2 (ヒトカテプシンLの大腸菌MM294(DE3)における発現)

参考例1のcDNAを制限酵素EcoRIで切断し、798bpの断片(ヒトカテプシンLのpro体の一部分と成熟体のすべてをコードする)を回収した。この断片の両側にBamHIのリンクー(5'-pCCGGATCCGG-3')を結合させ、大腸菌

発現用プラスミドベクターpET-3c [メソッズ・イン・エンザイモロジー(Methods in Enzymology, ed. D. V. Goeddel), 185巻, 68頁、アカデミック・プレス(Academic Press), 1990]に挿入した。構築したプラスミドをpET-HCL α と命名した。大腸菌MM294(DE3)をpET-HCL α で形質転換し、T7プロモーターの支配下でヒトカテプシンLの発現を行った[メソッズ・イン・エンザイモロジー(Methods in Enzymology), 185巻, 60頁(1990)]。形質転換した大腸菌[プラスミドpTBN-HCLneoを保持するエ

10 シエリヒア・コリ(Escherichia coli)JM109/pTBN-HCLneoは、平成4年6月12日から財団法人発酵研究所(IFO)に受託番号IFO 15341として、平成4年6月22日から通商産業省工業技術院生命工学工業技術研究所(NIBH)に受託番号FERM BP3897として寄託されている。]を培養し、得られた菌体を超音波破碎したものをSDS-PAGEに供しところ、30kDa付近にヒトカテプシンLに相当する特異的なバンドが検出された。また、発現した産物はインクルージョンボディを形成したので、形質転換体の超音波破碎物の沈澱画分から20 ヒトカテプシンLを粗精製した。

【0085】参考例3 (組換え体ヒトカテプシンLに対する抗血清の作製)

参考例2で記載した粗精製の組換え体ヒトカテプシンLを等量の完全フロイントアジュバントと混合し、約1mlをウサギに接種した。その後、粗精製ヒトカテプシンL標品と等量の不完全フロイントアジュバントとを混合したものを10日おきに3回注射し、最後の注射後の7日目に採血した。得られた血液を37℃で30分間、続いて4℃で一晩静置した後、遠心分離法によってヒトカテプシンL抗血清を調製した。

参考例4 (ヒトカテプシンL遺伝子を動物細胞で発現させるための組換えDNAの作製)

参考例1に記載のプラスミドpHCL-5を制限酵素BamHIで消化した後、ヒトカテプシンL cDNAの断片をアガロースゲル電気泳動法により回収した。次に、動物細胞における一過性発現用のベクターpTB551(オノ(Ono)ら、サイエンス(Science), 236巻, 1116頁(1989)に記載のプラスミドpTB389のEcoRI部位をBglII部位に変換したもの)の制限酵素BglII部位に、T4 DNAリガーゼとATPとの40 作用によって上述のcDNA断片を挿入し、発現プラスミドpTB-HCLを作製した。pTB-HCLの制限酵素HindIII部位とClaI部位の間にMuLV-LTRを挿入し、発現プラスミドpTBN-HCLを作製した。

【0086】参考例5 (ヒトカテプシンL遺伝子を動物細胞で発現させるための組換えDNAの作製)

ヒトカテプシンLの動物細胞における安定発現株を得るために、参考例4に記載した組換えベクターpTBN-HCLに葉剤耐性マーカーneoの遺伝子を以下のように組み込んだ。まず、プラスミドpTBN-HCLの制限酵素ClaI部位と50 SalI部位の間に、SV40初期プロモーターとneoの遺伝子

から成る断片を挿入し、プラスミドpTBN-HCLneoを作製した。

参考例6 (ヒトカテプシンL遺伝子の動物細胞における発現)

参考例5記載のプラスミド(pTBN-HCLneo)を用いて、マウスミエローマSp2/0細胞の形質転換を以下のように行った。5%ウシ胎児血清(FCS)を添加したASF104(5%FCS/ASF)培地で培養したSp2/0細胞をリン酸緩衝生理食塩液(PBS)(-)〔ドゥルベコ(Dulbecco)のPBSからCaCl₂とMgCl₂を除いたもの〕で 1×10^7 cells/mlになるように調整した。この細胞懸濁液500μlをキュベットに注入し、10μgの該プラスミドDNAを加えて5分間氷上に静置した。この液にジーンパルサー(バイオラッド社製)を用いて125μF、300Vの条件下でパルスを加えた後、氷上に戻して10分間静置した。この液を10mlの5%FCS/ASF104培地に移植し、5%二酸化炭素の存在下、37℃で培養した。48時間後、選択培地(200μg/ml G418を含む5%FCS/ASF104培地)に移植し、24穴プレートで2週間培養した。複数のコロニーの形成を確認し、それぞれを200μg/ml G418を含むASF104培地に植え継いで培養した後、培養上清を参考例3で作製したヒトカテプシンL抗血清を用いるウェスタンプロット分析に供したところ、該抗血清と反応する分子量約40,000～約30,000およびそれよりも小さい分子量の特異的なバンドが検出され、その分子量からヒトカテプシンLのプロ体とそのプロセスされた産物と推測された。培養上清におけるカテプシンLの活性をエー・ジー・バレット(A. J. Barratt)とエイチ・キルシュケ(H. Kirschke)の方法[メソッズ・イン・エンザイモロジー(Methods in Enzymology), 80巻, 535頁(1981)]に従って測定したところ、ヒトカテプシンLの活性が検出された。これらの結果から、カテプシンLを発現する形質転換マウスミエローマ細胞が得られたことを確認し、マウスミエローマSp-HCL26と命名した。

【0087】参考例7 (ヒトカテプシンLの精製)

参考例6で得られたカテプシンL高発現株(プラスミドpTBN-HCLneo)で形質転換体されたマウスミエローマSp-HCL26は、平成4年6月16日から財団法人発酵研究所(IFO)に受託番号IFO 50371として、平成4年6月24日から通商産業省工業技術院生命工学工業技術研究所(NIBH)に受託番号FERM BP 3902として寄託されている。)を10%FCSと200μg/ml G418とを添加したASF104培地20ml中で培養した後、無血清の選択培地(200μg/ml G418を添加したASF104培地)50mlに移植して5日間培養した。培養上清をCM-Sephadex C-50カラム(25×4.4cm)に負荷した後、緩衝液A(20mM酢酸ナトリウム、1mM EDTA、pH5.5)でカラムを洗浄した。続いて、0Mから1Mまでの塩化ナトリウム(NaCl)の濃度勾配で溶出したところ、ヒトカテプシンLは約0.4MのNaCl濃度付近で溶出された。この画分をFPLCシステム(ファ

ルマシア社製)のモノ・エス(Mono S)(HR5/5)に負荷し、カラムの洗浄とヒトカテプシンLの溶出を上記と同様に行った。約0.36MのNaCl濃度付近で溶出されたヒトカテプシンL画分を濃縮して精製標品を調製した。

【0088】参考例8

(2S,3S)-エチル・ハイドロゲン・トランス-エポキシスクシネート
テトラヘドロン(Tetrahedron), 36巻, 87頁(1980)

10 記載の(2S,3S)-トランス-エポキシコハク酸ジエチルエステル(15.1g)をエタノール(500ml)に溶解後、氷冷下、1N水酸化ナトリウム水(80.3ml)を加え、2時間攪拌した。反応液に水(100ml)を加え、濃縮後、pH2.5に調整し、塩化ナトリウムを加え、飽和とした後、酢酸エチル(150ml×6)で抽出した。酢酸エチル層は、飽和食塩水(100ml×4)で洗浄後、無水硫酸ナトリウムで乾燥、濃縮し、標記化合物(11.6g)を無色油状物として得た(収率90%)。

¹H NMR δ ppm (CDCl₃)

1.33(3H, t, J=7.2Hz), 3.71(1H, d, J=1.7Hz), 3.72(1H, d, J=1.6Hz), 4.27(1H, dd, J=7.1, 10.8Hz), 4.31(1H, dd, J=7.2, 10.8Hz)

【0089】参考例9

(2R,3R)-メチル・ハイドロゲン・トランス-エポキシスクシネート

特開昭62-277373号公報記載の(2R,3R)-トランス-エポキシコハク酸(10.0g)をエタノール(100ml)に溶解し、濃硫酸(2.45ml)を加え、7時間加熱還流した。反応液を飽和炭酸水素ナトリウム水で中和後、濃縮し、酢酸エチル-水で分配した。酢酸エチル層は23%炭酸水素ナトリウム水、水、飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸ナトリウムで乾燥、濃縮し、(2R,3R)-トランス-エポキシコハク酸ジエチルエステル(10.4g)を無色油状物として得た(収率73%)。これをメタノール(500ml)に溶解後、氷冷下、1N水酸化ナトリウム水(53.2ml)を加え、2時間攪拌した。反応液を濃縮、エーテル(50ml×2)で洗浄後、pH2.0に調整し、塩化ナトリウムを加え飽和とした後、酢酸エチル(200ml×5)で抽出した。酢酸エチル層は、水、飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸ナトリウムで乾燥、濃縮し、標記化合物(6.27g)

40 を無色油状物として得た(収率74%)。¹H NMR δ ppm (CDCl₃)
3.73(1H, d, J=1.6Hz), 3.74(1H, d, J=1.6Hz), 3.84(3H, s), 8.74(1H, br s)

参考例10

N-アセチル-N'-Z-1,4-ジアミノブタン

ホッペ-ゼイライーズ・ツァイトシュリフト・フィジオロギッシェ・ケミー(Hoppe-Seylers' Z. Physiol. Chem.), 349巻, 251頁(1968)記載のN-Z-1,4-ジアミノブタン(1.10g)をピリジン(5ml)に溶解し、氷冷下無水酢酸(10ml)とジクロロメタン(5ml)を加えた後、

室温で24時間攪拌した。反応液を減圧下、濃縮乾固し、酢酸エチルを加え、飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。さらに、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(100ml)に付し、酢酸エチル中メタノールを順次添加した溶離液で溶出し、0-20%(V/V)メタノール溶出画分より、標記化合物(0.95g)を得た(収率73%)。

¹H NMR δ ppm (CDCl₃)

1.44-1.60 (4H, m), 1.96 (3H, s), 3.20-3.35 (4H, m),
4.95 (1H, br), 5.09 (2H, s), 5.77 (1H, br), 7.28-7.40
(5H, m)

【0090】参考例11 主培養液の調製

ポテト・デキストロース斜面寒天培地に培養したアスペルギルス属 FL-47958株を200ml容三角フラスコ内のグルコース2%, 可溶性澱粉3%, 生大豆粉1%, コーン・スティープ・リカ-0.3%, ペプトン0.5%, 食塩0.3%, 炭酸カルシウム0.5%を含む40mlの種培地(pH 7.0)に接種し、28℃、48時間回転振盪機上で培養した。この培養液1mlを200ml容三角フラスコ内のデキストリン5%, コーンステイプ・リカ-3%, ポリペプトン0.5%, 塩化カルシウム1%, 炭酸カルシウム0.5% (pH 7.0)を含む40mlの主培地に移植し、24℃、5日間回転振盪機上で培養し、主培養液を得た。

参考例12 TAN-1868 モノナトリウム塩

参考例11で得られた培養液(3.3L)を濾過助剤(ハイフロースーパーセル, ジョンズ・マンビル・プロダクト社製, 米国)を用いて濾過した。濾液のpHを7.0に調整後、ダイヤイオンHP-20(200ml)のカラムクロマトグラフィーに付し、水(600ml)で洗浄後、5.0%(v/v)メタノール水(1000ml)で溶出した。溶出液を減圧下600mlまで濃縮し、アンバーライトIRA-68(C1型, 160ml)を充填したカラムを通過させ、水(500ml)で洗浄後、1M食塩水(800ml)で溶出した。溶出液をダイヤイオンHP-20(50-100)メッシュ, 150ml)のカラムクロマトグラフィーに付し、水(300ml)で洗浄後、水(300ml), 2.0%(v/v)メタノール水(300ml)で順次溶出した。溶出液を濃縮し、QAE-セファデックスA-25(C1型, 100ml)を充填したカラムを通過させ、水(300ml)で洗浄後、0.05M食塩水で溶出分画した。活性画分(400ml~600ml)をpH 7.1に調整後、ダイヤイオンHP-20(50-100)メッシュ, 50ml)を用いて脱塩し、粗粉末(52mg)を得た。得られた粗粉末を分取HPLC(カラム; YMC-Pack, D-ODS-5 (S-5 120A), 移動相; 9%(v/v)アセトニトリル/0.01Mリン酸緩衝液(pH 6.3), 流速; 1.0 ml/分)に付した。分析用HPLCで単一ピークを与える画分を集めて濃縮し、ダイヤイオンHP-20(50-100)メッシュ, 25ml)を用いて脱塩した。溶出液を濃縮後、凍結乾燥してN-アセチル-N-[N-(2S,3S)-3-トランス-カルボキシ

オキシラン-2-カルボニル]-L-ロイシル]-1,5-ジアミノペンタンモノナトリウム塩 (TAN-1868・モノナトリウム塩) (化合物95; 27mg)を得た。

1) 外観: 白色粉末

2) 比旋光度: +1.7' (c 0.53, 水, 25°C)

3) 分子量: m/z 394 (M + H)⁺, 416 (M + Na)⁺ (SI-マススペクトル)

4) 元素分析値: (%) (水分1.5モルとして計算)

実測値; C, 48.97; H, 7.73; N, 10.17; Na, 5.70

10 計算値; C, 48.57; H, 7.43; N, 9.99; Na, 5.47

5) 分子式: C₁₁H₂₂N₂O₆Na

6) UVスペクトル: 水中

末端吸収

7) IRスペクトル: KBr 錠剤中, 主な吸収を示す(波数, cm⁻¹)。[図15]

3290, 2940, 1650, 1560, 1440, 1390, 1300, 1260, 1100, 900

8) ¹³C NMRスペクトル: 75 MHz, 重水中, δ ppm (図16)

20 176.9 (Q), 176.8 (Q), 176.6 (Q), 172.5 (Q), 57.3 (CH), 55.8 (CH), 55.6 (CH), 42.8 (CH₂), 42.2 (CH₂), 42.1 (CH₂), 30.9 (CH₂), 30.8 (CH₂), 27.3 (CH), 26.2 (CH₂), 25.0 (CH₂), 24.8 (CH₂), 23.7 (CH₂)

9) 呈色反応: 陽性; ペプタイド, リンモリブデン酸反応

陰性; ニンヒドリン, 坂口, エールリッヒ反応

10) 高速液体クロマトグラフィー(HPLC): カラム; YMC-Pack A-312, ODS

移動相; 1.0%(v/v)アセトニトリル/0.01Mリン酸

30 緩衝液(pH 6.3)

流速; 2.0 ml/分

検出法; 214 nm

保持時間; 9.2分

11) 薄層クロマトグラフィー(TLC):

担体; シリカゲル60F254 (メルク社製, ドイツ)

展開溶媒(容量比); n-ブタノール: 酢酸: 水(2:1:1)

Rf値; 0.64

【0091】実施例1 主培養液の調製

40 ポテト・デキストロース斜面寒天培地に培養したケトミウム・グロボサム FL-41927株を2リットル容坂口フラスコ内のグルコース2%、可溶性澱粉3%、生大豆粉1%、コーン・スティープ・リカ-0.3%、ペプトン0.5%、食塩0.3%、炭酸カルシウム0.5%を含む500mlの種培地(pH 7.0)に接種し、28℃、48時間往復振盪機上で培養した。この培養液500mlを200リットル容ステンレス・スチール・タンク内の可溶性澱粉5%, コーングルテンミール1.5%, ビール酵母0.3%, 硫酸マグネシウム1%, リン酸二水素カリウム0.7%, リン酸水素二ナトリウム2%,

炭酸カルシウム0.7% (pH無修正) を含む120リットルの主培地に移植し、28℃、通気120リットル/分、攪拌180回転/分、内圧1kg/cm³の条件で5日間培養し、主培養液を得た。

実施例2 TAN-1756A, TAN-1756B
実施例1で得られた培養液(220リットル)を濾過助剤(ラジオライト600、昭和化学工業社製)を用いて濾過した。濾液(190リットル)のpHを7.0に調整後、活性炭(4リットル)のカラムクロマトグラフィーに付し、水(15リットル)で洗浄後、8%(v/v)イソブタノール水(40リットル)で溶出した。溶出液をpH7に調整後、アンバーライトIRA-402(OH型、4リットル)を充填したカラムを通過させ、水(15リットル)で洗浄後、1M食塩水(40リットル)で溶出した。溶出液のpHを7に調整後、ダイヤイオンHP-20(10リットル)のカラムクロマトグラフィーに付し、水(30リットル)で洗浄後、50%(v/v)メタノール水(40リットル)で溶出した。溶出液を減圧下濃縮し、アンバーライトIRA-402(C1型、500ml)を充填したカラムを通過させ、水(1リットル)で洗浄した。通過液と水洗液を合わせ濃縮後、凍結乾燥して粗粉末(11.4g)を得た。得られた粗粉末を水(20ml)に溶解後、微結晶セルロース(フナセル、500ml)のカラムクロマトグラフィーに付し、アセトニトリル(1リットル)、アセトニトリル:水[90:10(1.5リットル、フラクション3~5), 85:15(2.5リットル、フラクション6~10), 80:20(3リットル、フラクション11~16), 70:30(1.5リットル、フラクション17~19)]にて順次溶出し、500mlずつ分画した。フラクションNo.9から12, 13から16, 17から19の3画分に分け、それぞれを濃縮後、凍結乾燥してTAN-1756A, Bを含む粉末I(3.13g), 粉末II(2.74g)および粉末III(1.98g)を得た。粉末IIをさらに微結晶セルロース(フナセル、200ml)のカラムクロマトグラフィーに付し、アセトニトリル(400ml), アセトニトリル:水[90:10(600ml), 85:15(1800ml), 80:20(1000ml)]で順次溶出し、アセトニトリル:水[[85:15](800ml~1800ml)]で溶出される画分を濃縮後、凍結乾燥してTAN-1756Aを含む粉末IV(1.56g)を得た。またアセトニトリル:水[80:20(0ml~800ml)]で溶出される画分を濃縮し、析出した結晶を濾取してN-[N-[(2S,3S)-3-トランス-カルボキシオキシラン-2-カルボニル]-L-チロシル]-1,4-ジアミノブタン[TAN-1756B(化合物2)]の結晶(239mg)を得た。母液は濃縮後、凍結乾燥してTAN-1756Bを含む粉末V(659mg)を得た。

【0092】粉末Iと粉末IIIを合わせ、上記と同様の微結晶セルロースを用いたカラムクロマトグラフィーを2回行い、TAN-1756Aを含む粉末VI(2.6

g)とTAN-1756Bを含む粉末VII(361mg)を得た。TAN-1756Aを含む粉末IVと粉末VIを分取HPLC(カラム; YMC-Pack, S-363-15, ODS, 移動相; 5%(v/v)アセトニトリル水, 流速; 20ml/分)に付し、分析用HPLCで单一ピークを与える画分を集めて、濃縮後、凍結乾燥してN-[N-[(2S,3S)-3-トランス-カルボキシオキシラン-2-カルボニル]-L-フェニルアラニル]-1,4-ジアミノブタン[TAN-1756A(化合物1)]の粉末(181mg)を得た。TAN-1756Bを含む粉末Vと粉末VIIを分取HPLC(カラム; YM C-Pack, S-363-15, ODS, 移動相; 2%(v/v)アセトニトリル水, 流速; 20ml/分)に付し、分析用HPLCで单一ピークを与える画分を集めて、濃縮し、析出した結晶を濾取してTAN-1756B(化合物2)の結晶(307mg)を得た。

TAN-1756A
1) 外観: 白色粉末
2) 比旋光度: +5.3° (c 0.50, 0.1N 塩酸, 25℃)
3) 分子量: m/z 350 (M + H)⁺; (S I-マススペクトル)
20 4) 元素分析値: (%) (水分1.5モルとして計算)
実測値; C, 54.46; H, 6.40; N, 10.87
計算値; C, 54.25; H, 6.96; N, 11.16
5) 分子式: C₁₇H₂₂N₂O₆
6) UVスペクトル: 水中
極大値; 257 nm (ε 300, 肩)
7) IRスペクトル: KBr 錠剤中, 主な吸収を示す(波数, cm⁻¹)。 (図1) 3280, 3080, 2930, 1650, 1600, 1560, 1450, 1390, 1310, 1240, 890, 700
30 8) ¹³C NMRスペクトル: 75 Mz, 重水中, δ ppm (図2)
176.5 (Q), 175.4 (Q), 172.4 (Q), 139.2 (Q), 132.1 × 2 (CH), 131.7 × 2 (CH), 130.2 (CH), 58.2 (CH), 57.3 (CH), 55.7 (CH), 42.0 (CH₂), 41.4 (CH₂), 39.9 (CH₂), 28.2 (CH₂), 27.0 (CH₂)
9) 呈色反応: 陽性; ニンヒドリン, ペプタイド, リンモリブデン酸反応
陰性; 坂口, エールリッヒ反応
10) 高速液体クロマトグラフィー(HPLC):
40 カラム; YMC-Pack A-312, ODS
移動相; 5%(v/v)アセトニトリル/0.01Mリン酸緩衝液(pH 6.3)
流速; 2.0ml/分
検出法; 214 nm
保持時間; 15.5分
11) 薄層クロマトグラフィー(TLC):
担体; シリカゲル60F₂₅₄ (メルク社製, ドイツ)
展開溶媒(容量比); n-ブタノール:酢酸:水(2:1:1)
50 R_f 値; 0.49

【0093】 TAN-1756B

- 1) 外観: 無色結晶
- 2) 融点: 116 ~ 118°C
- 3) 比旋光度: +6.0° (c 0.53, 0.1N 塩酸, 25°C)
- 4) 分子量: m/z 366 (M + H)⁺, (S I - マススペクトル)
- 5) 元素分析値: (%) (水分 0.5 モルとして計算)
 実測値; C, 54.56; H, 6.37; N, 11.30
 計算値; C, 54.54; H, 6.46; N, 11.22
- 6) 分子式: $C_{11}H_{12}N_3O_6$
- 7) UVスペクトル: 水中
 極大値; 221 nm (ϵ 10,400), 273 nm (ϵ 1,300)
- 8) IRスペクトル: KBr 硫酸中, 主な吸収を示す (波数, cm^{-1})。 (図 3) 3280, 3090, 2950, 1660, 1650, 1610, 1560, 1520, 1440, 1390, 1270, 1240, 1170, 900, 700
- 9) ^{13}C NMR スペクトル: 75 MHz, 重水中, δ ppm (図 4) 176.5 (Q), 175.5 (Q), 172.4 (Q), 157.8 (Q), 133.5 \times 2 (CH), 130.7 (Q), 118.6 \times 2 (CH), 58.5 (CH), 57.2 (CH), 55.7 (CH), 42.0 (CH₂), 41.4 (CH₂), 39.0 (CH₂), 28.2 (CH₂), 27.0 (CH₂)

10) 呈色反応：陽性；ニンヒドリン，ペプタイド，リンモリブデン酸反応
 陰性；坂口，エールリッヒ反応

11) 高速液体クロマトグラフィー (HPLC)：
 カラム；YMC-Pack A-312, ODS
 移動相；5% (v/v) アセトニトリル / 0.01M リン酸緩衝液 (pH 6.3)
 流速；2.0 ml / 分
 検出法；214 nm, 254 nm
 保持時間；5.2 分

12) 薄層クロマトグラフィー (TLC) :

担体 ; シリカゲル 60 F₂₅₄ (メルク社製, ドイツ)

展開溶媒(容量比) ; n-ブタノール : 酢酸 : 水 (2 : 1 : 1) R_f 値 ; 0.41

【0094】実施例3 主培養液の調製

ポテト・デキストロース斜面寒天培地に培養したトリポクラディウム・シリンドロスボラム FL-43974 株を 2 リットル容坂口フラスコ内のグルコース 2 %, 可溶性澱粉 3 %, 生大豆粉 1 %, コーン・スティープ・リカ- 0.3 %, ペプトン 0.5 %, 食塩 0.3 %, 炭酸カルシウム 0.5 % を含む 500 ml の種培地 (pH 7.0) に接種し、28℃、48 時間往復振盪機上で培養した。この培養液 500 ml を 200 リットル容ステンレス・スチール・タンク内のデキストリン 5 %, コーンスティーピリカ- 3 %, ポリペプトン 0.5 %, 塩化カルシウム 1 %, 炭酸カルシウム 0.5 % (pH 7.0) を含む 120 リットルの主培地に移植し、24℃、通気 120 リットル/分、攪拌 180 回転/分、内圧 1 kg/cm² の条件で 5 日間培養し、主培養液を得た。

【0095】寒施例4 TAN-1354A·一塩酸

鹽, TAN-1854B·一塩酸塩

実施例3で得られた培養液(225リットル)を濾過助剤(ラジオライト600)を用いて濾過した。濾液(218リットル)のpHを7.0に調整後、活性炭(8リットル)のカラムクロマトグラフィーに付し、水(24リットル)で洗浄後、8%(v/v)イソブタノール水(80リットル)で溶出した。溶出液を減圧下濃縮し、アンバーライトIRC-50(H型、14リットル)を

10 充填したカラムを通過させ、水（42リットル）で洗浄後、1M食塩水（70リットル）で溶出した。溶出液のpHを7.0に調整後、ダイヤイオンHP-20（30リットル）のカラムクロマトグラフィーに付し、水（90リットル）で洗浄後、50%（v/v）メタノール／0.01M塩酸（90リットル）で溶出した。溶出液のpHを7.0に調整後、減圧下濃縮し、ダイヤイオンHP-20（100-200メッシュ、600ml）のカラムクロマトグラフィーに付し、水（900ml）で洗浄後、水（900ml）、50%（v/v）メタノール水（820ml），50%（v/v）メタノール／0.005N塩酸（900ml）で順次溶出した。溶出液を濃縮し、CM-セファデックス C-25（Na型、300ml）を充填したカラムを通過させ、水（900ml）で洗浄後、0.05M食塩水で溶出分画した。TAN-1854Aを主成分とする画分（2.4リットル～3.0リットル）とTAN-1854AおよびBを含む画分（3.0リットル～3.9リットル）とに分け、それぞれをダイヤイオンHP-20（100-200メッシュ）を用いて脱塩した。溶出液を濃縮後、凍結乾燥してTAN-1854Aを含む粉末（251mg）とTAN-1854AおよびBを含む粉末（259mg）を得た。

【0096】TAN-1854AおよびBを含む粉末(257 mg)を分取HPLC〔カラム; YMC-Pack, S-363-15, ODS, 移動相; 1%~3% (v/v)アセトニトリル/0.02Mリン酸緩衝液 (pH 3.0), 流速; 20 ml/分〕に付し、分析用HPLCでTAN-1854Aの単一ピークを与える画分(I)とTAN-1854Bの単一ピークを与える画分(II)に分けた。画分(II)を、アンバーライトIRA-402 (C1型, 40 m

40 1) を充填したカラムを通過させ、水 (40 ml) で洗浄した。通過液と水洗液を合わせ濃縮後、ダイヤイオン H P - 2 0 (100 - 200 メッシュ, 50 ml) を用いて脱塩した。溶出液を濃縮後、凍結乾燥して N - { (2S, 3 S) - 3 - トランス - カルボキシオキシラン - 2 - カルボニル } - L - チロシル } - N - (3 - アミノプロピル) - 1, 4 - ジアミノブタン - 一塩酸塩 [T A N - 1 8 5 4 B · 一塩酸塩, 化合物 4 ; 99 mg] を得た。 T A N - 1 8 5 4 A を含む粉末 (2 48 mg) を分取 H P L C [カラム ; YMC-Pack, S-363-15, ODS, 移動相 ; 3 % (v/v) アセトニトリル / O. 0 2 M リン酸緩衝液 (pH 3. 0), 流速 ; 20 ml / 分] に付

し、分析用HPLCで单一ピークを与える画分を集めた。これに上述の画分(I)を合わせ、アンバーライト IRA-402 (C1型, 100ml)を充填したカラムを通過させ、水(100ml)で洗浄した。通過液と水洗液を合わせ濃縮後、ダイヤイオンHP-20 (100-200 メッシュ, 50ml)を用いて脱塩した。溶出液を濃縮後、凍結乾燥してN-[N-[(2S,3S)-3-トランス-カルボキシオキシラン-2-カルボニル]-L-フェニルアラニル]-N-(3-アミノプロピル)-1,4-ジアミノブタン・一塩酸塩 [TAN-1854A・一塩酸塩, 化合物3; 143mg]を得た。

【0097】TAN-1854A・一塩酸塩

- 1) 外観: 白色粉末
- 2) 比旋光度: +4.3° (c 0.52, 0.1N 塩酸, 24°C)
- 3) 分子量: m/z 407 (M + H)⁺, (SI-マススペクトル)
- 4) 元素分析値: (%) (水分1モルとして計算)
実測値; C, 49.25; H, 6.92; N, 11.44, Cl, 8.97
計算値; C, 49.43; H, 7.05; N, 11.53, Cl, 7.30
- 5) 分子式: C₂₀H₃₀N₄O₅·HCl
- 6) UVスペクトル: 水中
極大値; 257 nm (ε 200, 肩)
- 7) IRスペクトル: KBr 錠剤中, 主な吸収を示す(波数, cm⁻¹)。 (図5) 3430, 3260, 3060, 1630, 1380, 900, 750, 700
- 8) ¹³C NMRスペクトル: 75 MHz, 重水中, δ ppm, TAN-1854Aは重水中, 2種のコンフォーマーの混合物として存在するので、主コンフォーマーのシグナルを示す。 (図6)
176.5 (Q), 175.5 (Q), 171.8 (Q), 138.8 (Q), 132.4 × 2 (CH), 131.8 × 2 (CH), 130.4 (CH), 57.2 (CH), 55.6 (CH), 54.1 (CH), 50.2 (CH₂), 46.1 (CH₂), 42.0 (CH₂), 40.5 (CH₂), 39.8 (CH₂), 27.8 × 2 (CH₂), 26.9 (CH₂)

9) 星色反応: 陽性; ニンヒドリン, ペプタイド, リンモリブデン酸反応

陰性; 坂口, エールリッヒ反応

- 10) 高速液体クロマトグラフィー (HPLC):
カラム; YMC-Pack A-312, ODS
移動相; 5% (v/v) アセトニトリル / 0.01M リン酸緩衝液 (pH 3.0)
流速; 2.0 ml/分
検出法; 214 nm
保持時間; 2.9 分

- 11) 薄層クロマトグラフィー (TLC):
担体; シリカゲル 60 F₂₅₄ (メルク社製, ドイツ)
展開溶媒(容量比); n-ブタノール:酢酸:水 (2:1:1)
R_f 値; 0.19

【0098】TAN-1854B・一塩酸塩

- 1) 外観: 白色粉末
- 2) 比旋光度: +4.0° (c 0.52, 0.1N 塩酸, 24°C)
- 3) 分子量: m/z 423 (M + H)⁺, (SI-マススペクトル)
- 4) 元素分析値: (%) (水分1.5モルとして計算)
実測値; C, 49.25; H, 6.92; N, 11.44, Cl, 8.97
計算値; C, 49.43; H, 7.05; N, 11.53, Cl, 7.30
- 5) 分子式: C₂₀H₃₀N₄O₅·HCl
- 6) UVスペクトル: 水中
極大値; 221 nm (ε 10,300), 273 nm (ε 1,100)
- 7) IRスペクトル: KBr 錠剤中, 主な吸収を示す(波数, cm⁻¹)。 (図7) 3430, 3260, 3070, 1620, 1520, 1380, 1240, 900, 840
- 8) ¹³C NMRスペクトル: 75 MHz, 重水中, δ ppm, TAN-1854Bは重水中, 2種のコンフォーマーの混合物として存在するので、主コンフォーマーのシグナルを示す。 (図8)
176.5 (Q), 175.7 (Q), 171.7 (Q), 157.9 (Q), 133.8 × 2 (CH), 130.5 (Q), 118.6 × 2 (CH), 57.2 (CH), 55.6 (CH), 54.3 (CH), 50.2 (CH₂), 46.1 (CH₂), 42.0 (CH₂), 39.8 (CH₂), 39.7 (CH₂), 27.8 (CH₂), 27.7 (CH₂), 27.0 (CH₂)
- 9) 星色反応: 陽性; ニンヒドリン, ペプタイド, リンモリブデン酸反応
陰性; 坂口, エールリッヒ反応
- 10) 高速液体クロマトグラフィー (HPLC):
カラム; YMC-Pack A-312, ODS
移動相; 5% (v/v) アセトニトリル / 0.01M リン酸緩衝液 (pH 3.0)
- 30) 流速; 2.0 ml/分
検出法; 214 nm
保持時間; 2.9 分
- 11) 薄層クロマトグラフィー (TLC):
担体; シリカゲル 60 F₂₅₄ (メルク社製, ドイツ)
展開溶媒(容量比); n-ブタノール:酢酸:水 (2:1:1)
R_f 値; 0.19
- 【0099】実施例5 N-Z-N'-[N-[(2S,3S)-3-トランス-エトキシカルボニルオキシラン-2-カルボニル]-L-フェニルアラニル]-1,4-ジアミノブタン
N-Z-1,4-ジアミノブタン (1.00 g), Boc-L-Phe-OH (1.31 g, ペプチド研究所製)をジクロロメタン (30 ml)に溶解後、氷冷下で HOBT (669 mg), WSC (949 mg)を加えた後、室温で14時間攪拌した。反応液に酢酸エチル (200 ml)を加え、10%クエン酸水、水、2%炭酸水素ナトリウム水、水、飽和食塩水でそれぞれ洗浄後、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。さらに、シリカゲルカラムクロマトグラフィー [キーゼルゲル (Kieselgel 60, イー・メルク (E. Merck) 社製, 独, 200 ml)]に付し、クロロホルム中メタノールを順次添加した溶離液で溶出

し、3% (v/v) メタノール溶出画分より、N-(Boc-L-フェニルアラニル)-N'-Z-1,4-ジアミノブタン (1.89 g) を得た (收率 90%)。これに、トリフルオロ酢酸 (TFA, 19 ml) を加え、2時間放置後、濃縮し、Boc 基を脱保護した。ジクロロメタン (50 ml) に溶解後、氷冷下、参考例8の (2S,3S)-エチル・ハイドロゲン・トランス-エポキシスクシネット (709 mg), トリエチルアミン (1.25 ml), HOBT (599 mg), WSC (849 mg) を加え、室温で14時間搅拌した。反応液にクロロホルムを加え、10% クエン酸水、水、飽和炭酸水素ナトリウム水、2% 炭酸水素ナトリウム水、水、飽和食塩水でそれぞれ洗浄後、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。さらに、シリカガルカラムクロマトグラフィー (200 ml) に付し、クロロホルム中メタノールを順次添加した溶出液で溶出し、1% から 2% (v/v) メタノール溶出画分から 標記化合物 (化合物5; 980 mg) を白色粉末として得た (收率 48%)。

〔 α 〕_D²⁵ + 22' (c 0.51, CHCl₃)

元素分析値 C₂₁H₃₃N₃O₇·0.6H₂O として

計算値 C; 62.08, H; 6.60, N; 8.04

実験値 C; 61.94, H; 6.44, N; 8.13

¹H NMR δ ppm (CDCl₃)

1.30 (3H, t, J=7.1Hz), 1.41 (4H, m), 3.03 (2H, m), 3.12 (1H, d, J=1.9Hz), 3.17 (4H, m), 3.62 (1H, d, J=1.9Hz), 4.24 (2H, m), 4.55 (1H, m), 4.85 (1H, br s), 5.10 (2H, s), 6.00 (1H, br s), 6.73 (1H, br d, J=8.0Hz), 7.15 - 7.38 (10H, m)

【0100】実施例6 N-Z-N'-{N-[(2S,3S)-3-トランス-カルボキシオキシラン-2-カルボニル]-L-フェニルアラニル}-1,4-ジアミノブタン

化合物5 (900 mg) をメタノール (100 ml) に溶解後、氷冷下 1N 水酸化ナトリウム水 (1.94 ml, 1.1等量) を加え、室温で3時間搅拌した。反応液を濃縮後、水を加え、pH 2.0 に調整後、酢酸エチル (200 ml × 3) で抽出し、酢酸エチル層は、水及び飽和食塩水で洗浄した。無水硫酸ナトリウムで乾燥後、濃縮し、標記化合物 (化合物6; 790 mg) を白色粉末として得た (收率 93%)。

元素分析値 C₂₁H₃₃N₃O₇·0.4H₂O として

計算値 C; 61.19, H; 6.12, N; 8.56

実験値 C; 61.24, H; 6.00, N; 8.75

¹H NMR δ ppm (DMSO-d₆)

1.34 (4H, m), 2.79 (1H, dd, J=9.5, 13.6Hz), 2.93 - 3.12 (5H, m), 3.28 (1H, d, J=1.8Hz), 3.58 (1H, d, J=1.8Hz), 4.50 (1H, dt, J=5.2, 8.9Hz), 5.00 (2H, s), 7.15 - 7.40 (11H, m), 8.08 (1H, t, J=5.5Hz), 8.59 (1H, d, J=8.6Hz)

【0101】実施例7 TAN-1756 A

化合物6 (730 mg) をメタノール (50 ml) に溶解後、水 (20 ml), パラジウム活性炭素 (10% (w/w), エング

ルハルト社製, 80 mg) を加え、室温水素雰囲気下2時間搅拌した。触媒を濾去し、濾液を濃縮後、凍結乾燥し、TAN-1756 A (化合物1; 460 mg) を白色粉末として得た (收率 87%)。この化合物の物理化学的データは、培養液から得られた化合物の物理化学的データと一致した。

実施例8 N-Z-N'-{O-ベンジル-N-[(2S,3S)-3-トランス-エトキシカルボニルオキシラン-2-カルボニル]-L-チロシル}-1,4-ジアミノブタン

10 実施例5と同様に N-Z-1,4-ジアミノブタン (1.10 g) と Boc-L-Tyr(Bz1)-OH (2.02 g, ペプチド研究所製) を縮合し N-(O-ベンジル-Boc-L-チロシル)-N'-Z-1,4-ジアミノブタン (3.01 g) を白色粉末として得た (收率定量的)。Boc 基を TFA で脱保護後、参考例8の (2S,3S)-エチル・ハイドロゲン・トランス-エポキシスクシネット (628 mg) と縮合し、標記化合物 (化合物7; 1.46 g) を白色粉末として得た (收率 66%)。

〔 α 〕_D²⁵ + 25' (c 0.57, CHCl₃)

元素分析値 C₂₄H₃₃N₃O₇·0.2CHCl₃ として

20 計算値 C; 64.02, H; 6.16, N; 6.55

実験値 C; 63.99, H; 6.05, N; 6.40

¹H NMR δ ppm (CDCl₃)

1.29 (3H, t, J=7.1Hz), 1.41 (4H, m), 2.97 (2H, m), 3.16 (4H, m), 3.20 (1H, d, J=1.9Hz), 3.64 (1H, d, J=1.9Hz), 4.24 (2H, m), 4.50 (1H, m), 4.88 (1H, br s), 5.03 (2H, s), 5.09 (2H, s), 5.98 (1H, br s), 6.73 (1H, br d, J=8.1Hz), 6.91 (2H, d, J=8.7Hz), 7.08 (2H, d, J=8.7Hz), 7.27 - 7.44 (10H, m)

【0102】実施例9 N-Z-N'-{O-ベンジル-N-[(2S,3S)-3-トランス-カルボキシオキシラン-2-カルボニル]-L-チロシル}-1,4-ジアミノブタン

30 実施例6と同様に、化合物7 (1.35 g) をアルカリ加水分解し、標記化合物 (化合物8; 1.22 g) を白色粉末として得た (收率 95%)。

元素分析値 C₂₂H₃₃N₃O₇·0.25H₂O として

計算値 C; 64.69, H; 6.02, N; 7.07

実験値 C; 64.57, H; 5.85, N; 6.93

¹H NMR δ ppm (DMSO-d₆)

1.35 (4H, m), 2.73 (1H, dd, J=9.5, 13.5Hz), 2.91 (1H, d, J=5.4, 13.7Hz), 2.98 (4H, m), 3.29 (1H, d, J=1.8Hz), 3.58 (1H, d, J=1.8Hz), 4.44 (1H, dt, J=5.6, 8.8Hz), 5.00 (2H, s), 5.05 (2H, s), 6.91 (2H, d, J=8.6Hz), 7.14 (2H, d, J=8.6Hz), 7.24 (1H, t, J=5.6Hz), 7.26 - 7.46 (10H, m), 8.08 (1H, t, J=5.5Hz), 8.56 (1H, d, J=8.6Hz)

実施例10 TAN-1756 B

実施例7と同様に化合物8 (1.10 g) を接触還元により Z 基を脱保護した後、分取高速液体クロマトグラフィー (カラム; YMC-Pack S-363-15 I-15 ODS, 移動相; 2.5% (v/v) アセトニトリル水, 流速; 20 ml/min, 検出 214 nm) で精製し、主ピークを集め濃縮、凍結乾燥し TAN

-1756 δ (化合物 2 ; 306 mg) を白色粉末として得た。(收率 45%) この化合物の物理化学的データは、培養液から得られた化合物の物理化学的データと一致した。

【0103】実施例 1 1 N-Z-N'-(N-[(2S, 3S)-3-トランス-エトキシカルボニルオキシラン-2-カルボニル]-D-フェニルアラニル)-1, 4-ジアミノブタン

実施例 5 と同様に N-Z-1, 4-ジアミノブタン (1.00 g) と Boc-D-Phe-OH (1.31g) とを縮合し N-(Boc-D-フェニルアラニル)-N'-Z-1, 4-ジアミノブタン (1.76 g) を白色粉末として得た (83.4 %)。Boc 基を TFA で脱保護後、参考例 8 の (2S, 3S)-エチル・ハイドロゲン・トランス-エポキシスクシネート (622 mg) と縮合し、標記化合物 (化合物 9 ; 990 mg) を白色粉末として得た (收率 57%)。

$[\alpha]_D^{25} + 19'$ (c 0.56, CHCl₃)

元素分析値 C₂₁H₂₃N₆O₇·0.2CHCl₃ として

計算値 C; 61.01, H; 6.25, N; 7.85

実験値 C; 60.98, H; 6.26, N; 8.17

¹H NMR δ ppm (CDCl₃)

1.30 (3H, t, J=7.2Hz), 1.34 (4H, m), 2.94 - 3.21 (6H, m), 3.51 (1H, d, J=1.8Hz), 3.65 (1H, d, J=1.9Hz), 4.25 (2H, m), 4.51 (1H, m), 4.81 (1H, br s), 5.10 (2H, s), 5.74 (1H, br s), 6.77 (1H, br d, J=8.4Hz), 7.18 - 7.37 (10H, m)

実施例 1 2 N-Z-N'-(N-[(2S, 3S)-3-トランス-カルボキシオキシラン-2-カルボニル]-D-フェニルアラニル)-1, 4-ジアミノブタン

実施例 6 と同様に化合物 9 (900 mg) をアルカリ加水分解し、標記化合物 (化合物 1 0 ; 810 mg) を白色粉末として得た (收率 95 %)。

元素分析値 C₂₁H₂₃N₆O₇·0.25H₂O として

計算値 C; 61.53, H; 6.09, N; 8.61

実験値 C; 61.67, H; 5.97, N; 8.75

¹H NMR δ ppm (DMSO-d₆)

1.34 (4H, m), 2.78 (1H, dd, J=9.3, 13.6Hz), 2.93 - 3.10 (5H, m), 3.31 (1H, d, J=1.8Hz), 3.60 (1H, d, J=1.8Hz), 4.48 (1H, dt, J=5.4, 8.8Hz), 5.00 (2H, s), 7.15 - 7.40 (11H, m), 8.07 (1H, t, J=5.6Hz), 8.68 (1H, d, J=8.5Hz)

【0104】実施例 1 3 N-{N-[(2S, 3S)-3-トランス-カルボキシオキシラン-2-カルボニル]-D-フェニルアラニル}-1, 4-ジアミノブタン

実施例 7 と同様に化合物 1 0 (750 mg) を接触還元により Z 基を脱保護した後、凍結乾燥し、標記化合物 (化合物 1 1 ; 510 mg) を白色粉末として得た (收率 94 %)。

$[\alpha]_D^{25} + 33'$ (c 0.56, 0.1 N HCl)

元素分析値 C₁₁H₂₁N₆O₆·1.5H₂O として

計算値 C; 54.25, H; 6.96, N; 11.16

実験値 C; 54.44, H; 6.93, N; 11.25

¹H NMR δ ppm (D₂O)

1.45 (4H, m), 2.87 - 3.16 (6H, m), 3.34 (1H, d, J=2.1Hz), 3.52 (1H, d, J=2.0Hz), 4.49 (1H, t, J=7.9Hz), 7.24 - 7.42 (5H, m)

実施例 1 4 N-Z-N'-(N-[(2R, 3R)-3-トランス-メトキシカルボニルオキシラン-2-カルボニル]-L-フェニルアラニル)-1, 4-ジアミノブタン

実施例 5 と同様に N-(Boc-L-フェニルアラニル)-N'-Z-1, 4-ジアミノブタン (1.65g) の Boc 基を TFA で脱保護後、参考例 9 の (2R, 3R)-メチル・ハイドロゲン・トランス-エポキシスクシネート (604 mg) と縮合し、標記化合物 (化合物 1 2 ; 1.12 g) を白色粉末として得た (收率 64%)。

$[\alpha]_D^{25} - 19'$ (c 0.53, CHCl₃)

元素分析値 C₂₂H₂₃N₆O₇·0.5H₂O として

計算値 C; 61.65, H; 6.37, N; 8.30

実験値 C; 61.78, H; 6.03, N; 8.59

¹H NMR δ ppm (CDCl₃)

1.34 (4H, m), 2.94 - 3.20 (6H, m), 3.54 (1H, d, J=1.8Hz), 3.66 (1H, d, J=1.9Hz), 3.79 (3H, s), 4.54 (1H, m), 4.87 (1H, br t, J=5.5Hz), 5.09 (2H, s), 5.90 (1H, br s), 6.88 (1H, br d, J=8.0Hz), 7.17 - 7.37 (10H, m)

【0105】実施例 1 5 N-Z-N'-(N-[(2R, 3R)-3-トランス-カルボキシオキシラン-2-カルボニル]-L-フェニルアラニル)-1, 4-ジアミノブタン

化合物 1 2 (1.00 g) を実施例 6 と同様に、メチルエステルをアルカリ加水分解し、標記化合物 (化合物 1 3 ; 970 mg) を白色粉末として得た (收率 定量的)。

元素分析値 C₂₂H₂₃N₆O₇·0.7CHCl₃ として

計算値 C; 54.43, H; 5.28, N; 7.41

実験値 C; 54.58, H; 5.62, N; 7.06

¹H NMR δ ppm (DMSO-d₆)

1.34 (4H, m), 2.82 (1H, dd, J=9.5, 13.5Hz), 2.91 - 3.04 (5H, m), 3.05 (1H, m), 3.30 (1H, m), 4.43 (1H, m), 5.00 (2H, s), 7.14 - 7.40 (11H, m), 8.05 (1H, t, J=5.1Hz), 8.29 (1H, d, J=8.4Hz)

【0106】実施例 1 6 N-{N-[(2R, 3R)-3-トランス-カルボキシオキシラン-2-カルボニル]-L-フェニルアラニル}-1, 4-ジアミノブタン

化合物 1 3 (860 mg) を実施例 7 と同様に、接触還元により Z 基を脱保護した後、凍結乾燥し、標記化合物 (化合物 1 4 ; 450 mg) を白色粉末として得た (收率 72 %)。

$[\alpha]_D^{25} - 35'$ (c 0.51, 0.1 N HCl)

元素分析値 C₁₁H₂₁N₆O₆·1.5H₂O として

計算値 C; 54.25, H; 6.96, N; 11.16

実験値 C; 54.52, H; 7.05, N; 11.16

¹H NMR δ ppm (D₂O)

1.47 (4H, m), 2.90 - 3.16 (6H, m), 3.35 (1H, d, J=2.1Hz), 3.53 (1H, d, J=1.9Hz), 4.50 (1H, t, J=7.9Hz), 7.25

(1H, d, $J=1.9\text{Hz}$), 4.23 (2H, m), 4.87 (1H, ddd, $J=6.2, 6.3, 8.0\text{Hz}$), 5.18 (2H, dd, $J=12.1, 20.1\text{Hz}$), 6.54 (1H, d, $J=8.0\text{Hz}$), 6.97 (2H, m), 7.21 - 7.41 (8H, m)

【0110】この一部 (1.50 g) をメタノール (50 ml) に溶解し、パラジウム活性炭素 [10% (w/w), 150 mg] を加え、室温水素雰囲気下 1.5 時間攪拌した。触媒を濾去後、濾液を濃縮し、N-[(2S, 3S)-3-トランス-エトキシカルボニルオキシラン-2-カルボニル] -L-フェニルアラニン (1.11 g) を白色粉末として得た (收率 96%)。さらにこの一部 (870 mg) を DMF (30 ml) に溶解後、氷冷下ホッペーゼイラーズ・ツァイトシュリフト・フィジオロギッセ・ケミー (Hoppe-Seylers' Z. Physiol. Chem.), 39巻, 251頁 (1968), N-Z-エチレンジアミン (549 mg), HOBT (382 mg), WSC (543 mg) を加え、室温で 16 時間攪拌した。反応液を濃縮後、酢酸エチル (200 ml) を加えた後、10% クエン酸水、水、飽和炭酸水素ナトリウム水、2% 炭酸水素ナトリウム水、水、飽和食塩水でそれぞれ洗浄後、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。さらに、シリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、クロロホルム中メタノールを順次添加した溶出液で溶出し、2% から 3% (v/v) メタノール溶出画分より、標記化合物 (化合物 18; 980 mg) を白色粉末として得た (收率 72%)。

$[\alpha]_D^{25} + 24'$ (c 0.55, CHCl_3)

元素分析値 $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{N}_6\text{O}_7 \cdot 0.25\text{H}_2\text{O}$ として

計算値 C; 61.53, H; 6.09, N; 8.61

実験値 C; 61.76, H; 5.99, N; 8.71

$^1\text{H NMR}$ δ ppm (CDCl_3)

1.30 (3H, t, $J=7.2\text{Hz}$), 2.97 (1H, dd, $J=7.5, 13.7\text{Hz}$), 3.08 (1H, dd, $J=7.3, 13.7\text{Hz}$), 3.13 (1H, d, $J=1.8\text{Hz}$), 3.15 - 3.40 (4H, m), 3.63 (1H, d, $J=1.8\text{Hz}$), 4.23 (2H, m), 4.57 (1H, dt, $J=7.9, 7.5\text{Hz}$), 5.08 (2H, s), 6.48 (1H, br s), 6.69 (1H, br d, $J=8.1\text{Hz}$), 7.15 (2H, m), 7.22 - 7.39 (8H, m)

【0111】実施例 21 N-Z-N' - { [(2S, 3S)-3-トランス-カルボキシオキシラン-2-カルボニル] -L-フェニルアラニル } エチレンジアミン

化合物 18 (900 mg) を実施例 6 と同様に、エチルエステルをアルカリ加水分解し、標記化合物 (化合物 19; 860 mg) を白色粉末として得た (收率 96%)。

元素分析値 $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{N}_6\text{O}_7$ として

計算値 C; 60.65, H; 5.53, N; 9.23

実験値 C; 60.70, H; 5.53, N; 9.30

$^1\text{H NMR}$ δ ppm ($\text{DMSO}-d_6$)

2.79 (1H, dd, $J=9.8, 13.7\text{Hz}$), 2.98 - 3.22 (5H, m), 3.27 (1H, d, $J=1.8\text{Hz}$), 3.57 (1H, d, $J=1.8\text{Hz}$), 4.49 (1H, d, $J=5.0, 9.1\text{Hz}$), 5.01 (2H, s), 7.16 - 7.40 (10H, m), 8.19 (1H, t, $J=5.5\text{Hz}$), 8.59 (1H, d, $J=8.6\text{Hz}$)

実施例 22 N- { N- [(2S, 3S)-3-トランス-カルボキシオキシラン-2-カルボニル] -L-フェニルアラニル } エチレン

ジアミン

化合物 19 (780 mg) を実施例 7 と同様に、接触還元により Z 基を脱保護した後、凍結乾燥し、標記化合物 (化合物 20; 480 mg) を白色粉末として得た (收率 87%)。

$[\alpha]_D^{25} + 50'$ (c 0.57, 0.1 N HCl)

元素分析値 $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{N}_6\text{O}_6 \cdot 1\text{H}_2\text{O}$ として

計算値 C; 53.09, H; 6.24, N; 12.38

実験値 C; 52.89, H; 6.48, N; 12.47

10 $^1\text{H NMR}$ δ ppm (D_2O)

3.02 (3H, m), 3.16 (1H, d, $J=1.9\text{Hz}$), 3.18 (1H, m), 3.41 (2H, m), 3.49 (1H, d, $J=1.9\text{Hz}$), 4.60 (1H, dd, $J=6.9, 8.7\text{Hz}$), 7.23 - 7.43 (5H, m)

【0112】実施例 23 N-Z-N' - { N- [(2S, 3S)-3-トランス-エトキシカルボニルオキシラン-2-カルボニル] -L-フェニルアラニル } -1,8-ジアミノオクタン

実施例 20 と同様に N- [(2S, 3S)-3-トランス-エトキシカルボニルオキシラン-2-カルボニル] -L-フェニルアラニン (1.11 g) と 1,8-ジアミノオクタンを用い ホッペー

20 -ゼイラーズ・ツァイトシュリフト・フィジオロギッセ・ケミー (Hoppe-Seylers' Z. Physiol. Chem.), 349巻, 251頁 (1968) 記載の方法に準じて製造した N-Z-1, 8-ジアミノオクタン (1.09 g) を縮合し、標記化合物 (化合物 21; 1.54 g) を白色粉末として得た (收率 76%)。

$[\alpha]_D^{25} + 24'$ (c 0.55, CHCl_3)

元素分析値 $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{N}_6\text{O}_7 \cdot 0.25\text{H}_2\text{O}$ として

計算値 C; 65.07, H; 7.31, N; 7.34

実験値 C; 65.27, H; 7.28, N; 7.35

30 $^1\text{H NMR}$ δ ppm (CDCl_3)

1.15 - 1.41 (12H, m), 1.30 (3H, t, $J=7.2\text{Hz}$), 1.49 (2H, m), 3.03 (2H, m), 3.13 (1H, d, $J=1.9\text{Hz}$), 3.17 (4H, m), 3.62 (1H, d, $J=1.9\text{Hz}$), 4.24 (2H, m), 4.53 (1H, dt, $J=7.8, 7.6\text{Hz}$), 4.79 (1H, br s), 5.09 (2H, s), 5.65 (1H, br s), 6.73 (1H, br d, $J=7.9\text{Hz}$), 7.17 (2H, m), 7.23 - 7.38 (8H, m)

実施例 24 N-Z-N' - { N- [(2S, 3S)-3-トランス-カルボキシオキシラン-2-カルボニル] -L-フェニルアラニル } -1,8-ジアミノオクタン

40 化合物 21 (1.44 g) を実施例 6 と同様に、エチルエステルをアルカリ加水分解し、標記化合物 (化合物 22; 1.41 g) を白色粉末として得た (收率 定量的)。

元素分析値 $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{N}_6\text{O}_7 \cdot 0.25\text{H}_2\text{O}$ として

計算値 C; 64.01, H; 6.95, N; 7.72

実験値 C; 63.96, H; 6.98, N; 7.70

$^1\text{H NMR}$ δ ppm ($\text{DMSO}-d_6$)

1.22 (8H, m), 1.36 (4H, m), 2.80 (1H, dd, $J=9.2, 13.5\text{Hz}$), 3.00 (5H, m), 3.29 (1H, d, $J=1.8\text{Hz}$), 3.58 (1H, d, $J=1.8\text{Hz}$), 4.50 (1H, dt, $J=5.4, 8.9\text{Hz}$), 5.00 (2H, s), 7.16 - 7.40 (10H, m), 8.07 (1H, t, $J=5.6\text{Hz}$), 8.61 (1H, d,

J=8.6Hz)

【0113】実施例25 N-[N-[2S,3S]-3-トランス-カルボキシオキシラン-2-カルボニル]-L-フェニルアラニル}-1,8-ジアミノオクタン

化合物22 (1.30 g) を実施例7と同様に、接触還元によりZ基を脱保護した後、凍結乾燥し、標記化合物(化合物23; 872 mg)を白色粉末として得た(收率90%)。

[\alpha]_D^25 +46' (c 0.53, 0.1N HCl)

元素分析値 C₁₈H₂₄N₂O₆·0.25H₂O として

計算値 C; 61.52, H; 7.74, N; 10.25

実験値 C; 61.75, H; 7.60, N; 10.08

¹H NMR δ ppm (D₂O)

1.33 (10H, m), 1.64 (2H, m), 2.98 (2H, m), 3.10 (4H, m), 3.22 (1H, d, J=1.9Hz), 3.50 (1H, d, J=2.1Hz), 4.53 (1H, t, J=7.8Hz), 7.24 - 7.42 (5H, m)

実施例26 N-メチル-N'-[N-[2S,3S]-3-トランス-エトキシカルボニルオキシラン-2-カルボニル]-L-フェニルアラニル}ピペラジン

実施例20と同様に N-[N-[2S,3S]-3-トランス-エトキシカルボニルオキシラン-2-カルボニル]-L-フェニルアラニン (1.50 g) と N-メチル-ピペラジン (651 μl) を縮合し、標記化合物(化合物24; 1.59 g)を無色油状物として得た(收率84%)。

[\alpha]_D^25 +30' (c 0.59, CHCl₃)

元素分析値 C₁₈H₂₄N₂O₆·0.22CHCl₃ として

計算値 C; 58.42, H; 6.60, N; 10.11

実験値 C; 58.31, H; 6.60, N; 10.35

¹H NMR δ ppm (CDCl₃)

1.31 (3H, t, J=7.2Hz), 1.90 (1H, m), 2.21 (3H, s), 2.23 (1H, m), 2.30 (2H, m), 2.97 (2H, m), 3.04 (1H, m), 3.32 (1H, d, J=1.9Hz), 3.36 (1H, m), 3.51 (1H, m), 3.62 (1H, d, J=1.9Hz), 3.66 (1H, m), 4.25 (2H, m), 5.13 (1H, d dd, J=6.4, 8.2, 8.2Hz), 6.99 (1H, br d, J=8.2Hz), 7.15 (2H, m), 7.22 - 7.34 (3H, m)

【0114】実施例27 N-メチル-N'-[N-[2S,3S]-3-トランス-カルボキシオキシラン-2-カルボニル]-L-フェニルアラニル}ピペラジン

化合物24 (1.50 g)を実施例6と同様に、エチルエステルをアルカリ加水分解後、濃縮し、水を加え、pH6.5に調整後、ダイアイオンHP-20 (30 ml, 三菱化成工業社製)に付し、水洗後、50% (v/v)メタノール水で溶出した。溶出液を濃縮後、凍結乾燥し、標記化合物(化合物25; 1.17 g)を白色粉末として得た(收率84%)。

[\alpha]_D^25 +78' (c 0.58, 0.1N HCl)

元素分析値 C₁₈H₂₄N₂O₆·1.5H₂O として

計算値 C; 55.66, H; 6.75, N; 10.82

実験値 C; 55.52, H; 6.89, N; 10.76

¹H NMR δ ppm (D₂O)

2.12 (1H, m), 2.64 (3H, s), 2.78 (1H, m), 3.07 (4H, m), 3.36 (1H, d, J=1.8Hz), 3.49 (1H, m), 3.53 (1H, d, J=1.8Hz), 3.60 (2H, m), 3.85 (1H, m), 5.07 (1H, dd, J=6.7, 9.2Hz), 7.27 - 7.47 (5H, m)

実施例28 N-[N-[2S,3S]-3-トランス-エトキシカルボニルオキシラン-2-カルボニル]-L-フェニルアラニル}モルホリン

実施例20と同様に N-[N-[2S,3S]-3-トランス-エトキシカルボニルオキシラン-2-カルボニル]-L-フェニルアラニン (1.00 g) とモルホリン (313 μl)を縮合し、標記化合物(化合物26; 1.09 g)を無色油状物として得た(收率89%)。

[\alpha]_D^25 +41' (c 0.64, CHCl₃)

元素分析値 C₁₈H₂₄N₂O₆·0.35CHCl₃ として

計算値 C; 55.57, H; 5.87, N; 6.70

実験値 C; 55.48, H; 5.85, N; 6.73

¹H NMR δ ppm (CDCl₃)

1.31 (3H, t, J=7.2Hz), 2.99 (4H, m), 3.31 (1H, m), 3.35 (1H, d, J=1.9Hz), 3.40 - 3.62 (5H, m), 3.63 (1H, d, J=1.9Hz), 4.26 (2H, m), 5.10 (1H, q, J=7.6Hz), 6.95 (1H, d, J=8.2Hz), 7.17 (2H, m), 7.30 (3H, m)

【0115】実施例29 N-[N-[2S,3S]-3-トランス-カルボキシオキシラン-2-カルボニル]-L-フェニルアラニル}モルホリン・モノナトリウム塩

化合物26 (990 mg)を実施例27と同様に、エチルエステルをアルカリ加水分解し、樹脂で脱塩後、濃縮、凍結乾燥し、標記化合物(化合物27, 700 mg)を得た(收率72%)。

[\alpha]_D^25 +70' (c 0.63, H₂O)

元素分析値 C₁₈H₂₄N₂O₆Na·0.7H₂O として

計算値 C; 53.31, H; 5.37, N; 7.32, Na; 6.00

実験値 C; 53.52, H; 5.72, N; 7.32, Na; 6.00

¹H NMR δ ppm (D₂O)

2.98 (1H, m), 3.06 (2H, m), 3.26 (1H, m), 3.35 (1H, d, J=2.0Hz), 3.46 (3H, m), 3.53 (1H, d, J=2.0Hz), 3.56 (2H, m), 3.66 (1H, m), 5.07 (1H, dd, J=7.0, 8.6Hz), 7.28 (2H, m), 7.38 (3H, m)

実施例30 N-アセチル-N'-[N-[2S,3S]-3-トランス-エトキシカルボニルオキシラン-2-カルボニル]-L-フェニルアラニル}-1,4-ジアミノブタン

参考例10のN-アセチル-N'-Z-1,4-ジアミノブタン (0.94g)をメタノール (32ml)に溶解後、パラジウム活性炭素 [10% (w/w), 94mg]を加え、水素雰囲気下、25°Cで1.5時間攪拌した。触媒を濾去し、濾液を濃縮乾固してN-アセチル-1,4-ジアミノブタン (0.47g)を得た。

実施例20と同様に N-[N-[2S,3S]-3-トランス-エトキシカルボニルオキシラン-2-カルボニル]-L-フェニルアラニン (1.22 g)とN-アセチル-1,4-ジアミノブタン (0.47 g)を縮合し、標記化合物(化合物28; 0.96 g)を得た。

白色粉末として得た(收率63%)。

元素分析値 $C_{18}H_{28}N_3O_6 \cdot 0.3H_2O$ として

計算値 C; 59.37, H; 7.02, N; 9.89

実験値 C; 59.37, H; 6.89, N; 9.79

1H NMR δ ppm (DMSO- d_6)

1.22 (3H, t, $J=7.0\text{Hz}$), 1.32 (4H, m), 1.78 (3H, s), 2.79 (1H, dd, $J=9.5, 14.0\text{Hz}$), 2.92 - 3.10 (5H, m), 3.42 (1H, d, $J=2.0\text{Hz}$), 3.64 (1H, d, $J=2.0\text{Hz}$), 4.17 (2H, m), 4.50 (1H, m), 7.16 - 7.31 (5H, m), 7.79 (1H, br t, $J=5.5\text{Hz}$), 8.11 (1H, br t, $J=5.5\text{Hz}$), 8.66 (1H, br d, $J=8.5\text{Hz}$)

【0116】実施例31 N-アセチル-N'-(N-[2S,3S]-3-トランス-カルボキシオキシラン-2-カルボニル]-L-フェニルアラニル)-1,4-ジアミノブタン・モノナトリウム塩

化合物28 (950 mg) を実施例27と同様に、エチルエステルをアルカリ加水分解し、樹脂で脱塩後、濃縮、凍結乾燥し、標記化合物（化合物29, 858 mg）を得た（收率 92%）。

$[\alpha]_D^{25} + 39'$ (c 0.52, H_2O)

元素分析値 $C_{18}H_{28}N_3O_6Na \cdot H_2O$ として

計算値 C; 52.90, H; 6.07, N; 9.74, Na; 5.33

実験値 C; 53.02, H; 6.36, N; 9.84, Na; 5.40

1H NMR δ ppm (DMSO- d_6)

1.34 (4H, m), 1.78 (3H, s), 2.83 (1H, dd, $J=10.5, 13.5\text{Hz}$), 2.90 (1H, d, $J=2.0\text{Hz}$), 2.92 - 3.12 (5H, m), 3.24 (1H, d, $J=2.0\text{Hz}$), 4.34 (1H, m), 7.16 - 7.32 (5H, m), 8.08 (1H, br t, $J=5.5\text{Hz}$), 8.70 (1H, br t, $J=5.0\text{Hz}$), 9.45 (1H, br d, $J=8.0\text{Hz}$)

【0117】実施例32 TAN-1854A・一塩酸塩

実施例5と同様に3-アミノ-1-プロパノールおよび1,4-ジアミノブタンを用い特開昭57-192347号公報記載の方法に準じて製造したN-Z-N'-(Z-3-アミノプロピル)-1,4-ジアミノブタン (116 mg) とBoc-L-Phe-OH (118 mg, ペプチド研究所製) とを縮合し N-(Boc-L-フェニルアラニル)-N-(Z-3-アミノプロピル)-N'-Z-1,4-ジアミノブタン (162 mg) を白色粉末として得た（收率 61%）。得られた粉末 (157 mg) のBoc基をTFAで脱保護後、参考例8の(2S,3S)-エチル・ハイドロゲン・トランス-エポキシスクシネート (35 mg) と縮合し、N-Z-N'-(N-[(2S,3S)-3-トランス-エトキカルボニルオキシラン-2-カルボニル]-L-フェニルアラニル)-N'-(Z-3-アミノプロピル)-1,4-ジアミノブタン (88 mg) を白色粉末として得た（收率 53%）。この化合物 (87 mg) を、実施例6と同様にアルカリ加水分解し、N-Z-N'-(N-[(2S,3S)-3-トランス-カルボキシオキシラン-2-カルボニル]-L-フェニルアラニル)-N'-(Z-3-アミノプロピル)-1,4-ジアミノブタン (82 mg)を得た（收率 98%）。上記化合物 (81 mg) をメタノール (7 ml) に溶解後、水 (3.5 ml), 酢酸 (8 μ l), パラジウム活性炭素 (10% (w/w), 2

3 mg) を加え、室温水素雰囲気下 1.5 時間搅拌した。

触媒を滤去し、滤液を濃縮後、CM-セファデックス C-25 (Na型, 10 ml) のカラムクロマトグラフィーに付し、0.05M食塩水で溶出分画した。TAN-1854Aを主成分とする画分を集め濃縮後、分取HPLC [カラム; YMC-Pack, D-ODS-5 (S-5 120A), 移動相; 3% (v/v) アセトニトリル / 0.01Mリン酸緩衝液 (pH 6.3), 流速; 10 ml/分] に付した。分析用HPLCでTAN-1854Aの単一ピークを与える画分を集め、アンバーライト IRA-402 (C1型, 20 ml) を充填したカラムを通過させ、水 (20 ml) で洗浄した。通過液と水洗液を合わせ濃縮後、ダイヤイオンHP-20 (100 - 200 メッシュ, 15 ml) を用いて脱塩した。溶出液を濃縮後、凍結乾燥してTAN-1854Aの一塩酸塩（化合物3, 31 mg）を得た（收率58%）。この化合物の物理化学的データは、培養液から得られた化合物の物理化学的データと一致した。

【0118】実施例33 TAN-1756A, B, C, Dの主培養液の調製

20 ポテト・デキストロース斜面寒天培地に培養したケトミウム・グロボサム FL-41927株を2リットル容坂口プラスコ内のグルコース2%、可溶性澱粉3%、生大豆粉1%、コーン・スティーピ・リカー0.3%、ペプトン0.5%、食塩0.3%、炭酸カルシウム0.5%を含む500 mlの種培地 (pH 7.0) に接種し、28°C、48時間往復振盪機上で培養した。この培養液500 mlを200リットル容ステンレス・スチール・タンク内の120リットルの種培地に移植し、24°C、通気120リットル/分、搅拌120回転/分、内圧1 kg/cm²の条件で48時間培養した。さらに、この培養液12リットルを2000リットル容ステンレス・スチール・タンク内の可溶性澱粉5%，コーングルテンミール1.5%，ビール酵母0.3%，硫酸マグネシウム1%，リン酸二水素カリウム0.7%，リン酸水素二ナトリウム2%，炭酸カルシウム0.7% (pH無修正) を含む1200リットルの主培地に移植し、28°C、通気1200リットル/分、搅拌120回転/分、内圧1 kg/cm²の条件で5日間培養し、主培養液を得た。

30 【0119】実施例34 TAN-1756C・1/2硫酸塩

40 実施例33で得られた培養液 (1100リットル) を濾過補助剤 (ラジオライト 600) を用いて濾過した。濾液 (1420リットル) のpHを6.8に調整後、ダイヤイオンHP-20 (150リットル) のカラムクロマトグラフィーに付し、水 (450リットル) で洗浄後、70% (v/v) メタノール水 (750リットル) で溶出した。溶出液を減圧下濃縮し、アンバーライト IRA-402 (C1型, 25リットル) を充填したカラムを通過させ、水 (50リットル) で洗浄した。通過液と水洗液を合わせpH 7に調整後、ダイヤイオンHP-20

(60リットル) のカラムクロマトグラフィーに付した。水(180リットル)で洗浄後、70%(v/v)メタノール水(120リットル)で溶出し、溶出液を減圧下濃縮した。なお水洗液中には、HPLC分析によりTAN-1756B(2.6g)が検出された。濃縮液を再度、ダイヤイオンHP-20(100-200メッシュ、2リットル)のカラムクロマトグラフィーに付し、水(6リットル)、20%(v/v)メタノール水(6リットル)で順次溶出分画した。なお、通過液および水洗液(0-2リットル)中には、HPLC分析によりTAN-1756A(4.3g)が検出された。水(2-6リットル)、20%(v/v)メタノール水(0-2リットル)溶出画分を減圧下濃縮し、培養液(1200リットル)から上記と同様の操作によって得られた濃縮液と合わせて400mlとした。得られた濃縮液(400ml)を、アンバーライトIRC-50(Na型、1リットル)のカラムクロマトグラフィーに付し、水(4リットル)、1M食塩水(6リットル)で順次溶出分画した。水(1.5-4リットル)、1M食塩水(0-2リットル)溶出画分を、ダイヤイオンHP-20(500ml)のカラムクロマトグラフィーに付し、水(2リットル)、50%(v/v)メタノール水(1.5リットル)で洗浄後、50%(v/v)メタノール/0.005M塩酸(1リットル)で溶出した。溶出液を濃縮後、凍結乾燥してTAN-1756CおよびDを含む粗粉末(987mg)を得た。この粗粉末(980mg)を水(100ml)に溶解し、CM-セファデックスC-25(Na型、80ml)を充填したカラムを通過させ、水(240ml)で洗浄後、0.05M食塩水で溶出分画した。TAN-1756Cを主成分とする画分(1000-1240ml)とTAN-1756Dを主成分とする画分(740-1000ml)とに分け、それぞれをダイヤイオンHP-20を用いて脱塩した。溶出液を濃縮後、凍結乾燥してTAN-1756Cを含む粉末(330mg)とTAN-1756Dを含む粉末(150mg)を得た。

【0120】TAN-1756Cを含む粉末(320mg)を分取HPLC[カラム; YMC-Pack, S-363-15, ODS, 移動相; 4%(v/v)アセトニトリル/0.01Mリン酸緩衝液(pH3.0), 流速; 20ml/分]に付し、分析用HPLCでTAN-1756Cの単一ピークを与える画分を集め、アンバーライトIRA-402(C1型, 100ml)を充填したカラムを通過させ、水(100ml)で洗浄した。通過液と水洗液を合わせ濃縮後、ダイヤイオンHP-20(30ml)を用いて脱塩した。溶出液を濃縮後、凍結乾燥してTAN-1756C-1塩酸塩(181mg)を得た。TAN-1756C-1塩酸塩(178mg)を水(20ml)に溶解し、アンバーライトIRA-402(SO₄型, 10ml)を充填したカラムを通過させ、水(20ml)で洗浄した。通過液と水洗液を合わせ濃縮後、凍結乾燥してTAN-1

756C-1/2硫酸塩(化合物30; 173mg)を得た。TAN-1756Dを含む粉末(145mg)を分取HPLC[カラム; YMC-Pack, D-ODS-5, 移動相; 3%(v/v)アセトニトリル/0.01Mリン酸緩衝液(pH3.0), 流速; 10ml/分]に付し、分析用HPLCで単一ピークを与える画分を集め、アンバーライトIRA-402(SO₄型, 50ml)を充填したカラムを通過させ、水(90ml)で洗浄した。通過液と水洗液を合わせ濃縮後、ダイヤイオンHP-20(15ml)を用いて脱塩した。溶出液を濃縮後、凍結乾燥してTAN-1756D-1/2硫酸塩(化合物31; 78mg)を得た。

【0121】TAN-1756C-1/2硫酸塩

- 1) 外観: 白色粉末
- 2) 比旋光度: +3.9° (c 0.51, 0.1N 塩酸, 24°C)
- 3) 分子量: m/z 407 (M + H)⁺, (SI-マススペクトル)
- 4) 元素分析値: (%) (水分1モルとして計算)
実測値; C, 50.27; H, 7.00; N, 12.05; S, 2.95
計算値; C, 50.73; H, 7.02; N, 11.83; S, 3.39
- 5) 分子式: C₂₀H₃₀N₂O₅·1/2H₂SO₄
- 6) UVスペクトル: 水中
極大値; 257 nm (ε 250, 肩)
7) IRスペクトル: KBr 錠剤中, 主な吸収を示す(波数, cm⁻¹)。 (図9) 3430, 3280, 3060, 2950, 1650, 1550, 1450, 1380, 1250, 1120, 900, 750, 620
- 8) ¹³C NMRスペクトル: 75 Mz, 重水中, δ ppm (図10) 176.5 (Q), 175.5 (Q), 172.4 (Q), 139.2 (Q), 132.1 × 2 (CH), 131.7 × 2 (CH), 130.2 (CH), 58.3 (CH), 57.2 (CH), 55.7 (CH), 50.2 (CH₂), 47.3 (CH₂), 41.3 (CH₂), 39.7 (CH₂), 39.5 (CH₂), 28.3 (CH₂), 26.7 (CH₂), 25.7 (CH₂)
- 9) 呈色反応: 陽性; ニンヒドリン, ペプタイド, リンモリブデン酸反応
陰性; 坂口, エールリッヒ反応
- 10) 高速液体クロマトグラフィー(HPLC):
カラム; YMC-Pack A-312, ODS
移動相; 7%(v/v)アセトニトリル/0.01Mリン酸緩衝液(pH6.3)
流速; 2.0ml/分
- 40) 検出法; 214 nm
保持時間; 7.2分
- 11) 薄層クロマトグラフィー(TLC):
担体; シリカゲル60F₂₅₄
展開溶媒; n-ブタノール:酢酸:水(2:1:1)
R_f値; 0.14

【0122】TAN-1756D-1/2硫酸塩

 - 1) 外観: 白色粉末
 - 2) 比旋光度: +4.6° (c 0.58, 0.1N 塩酸, 24°C)
 - 3) 分子量: m/z 407 (M + H)⁺, (SI-マススペクトル)

4) 元素分析値 : (%) (水分 1.5 モルとして計算)
 実測値 ; C, 50.08; H, 7.07; N, 12.02
 計算値 ; C, 49.78; H, 7.10; N, 11.61

5) 分子式 : $C_{20}H_{28}N_4O_6 \cdot 1/2H_2SO_4$

6) UVスペクトル : 水中

極大値 ; 257 nm (ϵ 200, 肩)

7) IRスペクトル : KBr 錠剤中, 主な吸収を示す (波数, cm^{-1})。 (図 11) 3430, 3270, 3060, 2950, 1650, 1550, 1450, 1380, 1250, 1120, 900, 750, 700, 620

8) ^{13}C NMRスペクトル : 75 MHz, 重水中, δ ppm (図 12) 176.5 (Q), 176.0 (Q), 172.5 (Q), 139.1 (Q), 132.1 \times 2 (CH), 131.8 \times 2 (CH), 130.2 (CH), 58.3 (CH), 57.2 (CH), 55.6 (CH), 49.8 (CH₂), 47.8 (CH₂), 41.7 (CH₂), 39.6 (CH₂), 38.9 (CH₂), 28.3 (CH₂), 26.8 (CH₂), 25.6 (CH₂)

9) 呈色反応 : 陽性 ; ニンヒドリン, ペプタイド, リンモリブデン酸反応

陰性 ; 坂口, エールリッヒ反応

10) 高速液体クロマトグラフィー (HPLC) :

カラム ; YMC-Pack A-312, ODS

移動相 ; 7% (v/v) アセトニトリル / 0.01M リン酸緩衝液 (pH 6.3)

流速 ; 2.0 ml/分

検出法 ; 214 nm

保持時間 ; 5.5 分

11) 薄層クロマトグラフィー (TLC) :

担体 ; シリカゲル 60 F₂₅₄

展開溶媒 ; n-ブタノール : 酢酸 : 水 (2 : 1 : 1)

Rf 値 ; 0.14

【0123】実施例 35 N-トシル-N'-[N-[(2S,3S)-3-トランス-エトキシカルボニルオキシラン-2-カルボニル]-L-フェニルアラニル]-1,4-ジアミノブタン

N-Z-1,4-ジアミノブタン (1.40 g) をピリジン (20 ml) に溶解し、氷冷下塩化トシル (1.38 g) を加え、室温で 7 時間攪拌した。反応液を減圧下、濃縮乾固し、酢酸エチルを加え、0.2N 塩酸、2% 炭酸水素ナトリウム

*

元素分析値 $C_{22}H_{28}N_4O_6SNa \cdot H_2O$ として

計算値 C; 53.03, H; 5.56, N; 7.73, S; 5.90, Na; 4.23

実験値 C; 52.89, H; 5.72, N; 7.63, S; 5.92, Na; 4.10

1H NMR δ ppm (D₂O)

1.20 (4H, m), 2.39 (3H, s), 2.76 (2H, t, J=6.5Hz), 2.84 - 3.12 (4H, m), 3.21 (1H, d, J=2.0Hz), 3.49 (1H, d, J=2.0Hz), 4.49 (1H, t, J=7.7Hz), 7.16 - 7.36 (5H, m), 7.42 (2H, d, J=8.3Hz), 7.72 (2H, d, J=8.3Hz)

実施例 37 N-ブチリル-N'-[N-[(2S,3S)-3-トランス-エトキシカルボニルオキシラン-2-カルボニル]-L-フェニルアラニル]-1,4-ジアミノブタン

化合物 1 (506 mg) をピリジン / DMF (1:1, 40 ml) に溶解し、氷冷下塩化ブチリル (300 μ l) を加え、氷冷下 1 時間攪拌した。反応液を濃縮し、水を加え pH 2.5 に

※50

* 水、飽和食塩水で順次洗浄した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (100 ml) に付し、ヘキサン中酢酸エチルを順次添加した溶出液で溶出し、50% (v/v) 酢酸エチル溶出画分より、N-トシル-N'-Z-1,4-ジアミノブタン (1.97 g) を得た (收率 83%)。得られた N-トシル-N'-Z-1,4-ジアミノブタン (1.90 g) をメタノール (60 ml) に溶解後、パラジウム活性炭素 [10% (w/w), 190 mg] を加え、水素雰囲気下、25 °C で 1.5 時間攪拌した。触媒を濾去し、濾液を濃縮乾固して N-トシル-1,4-ジアミノブタン (1.27 g) を得た (收率 定量的)。

実施例 5 と同様に N-トシル-1,4-ジアミノブタン (1.27 g) と Boc-L-Phe-OH (1.47 g) を縮合し、N-(Boc-L-フェニルアラニル)-N'-トシル-1,4-ジアミノブタン (2.19 g) を得た (收率 85%)。Boc 基を TFA で脱保護後、参考例 8 の (2S,3S)-エチル・ハイドロゲン・トランス-エポキシスクシネット (774 mg) と縮合し、標記化合物 (化合物 32; 1.55 g) を得た (收率 67%)。

元素分析値 $C_{22}H_{28}N_4O_6S$ として

20 計算値 C; 58.74, H; 6.26, N; 7.90, S; 6.03

実験値 C; 58.25, H; 6.21, N; 7.80, S; 6.04

1H NMR δ ppm (DMSO-d₆)

1.22 (3H, t, J=7.0Hz), 1.32 (4H, m), 2.38 (3H, s), 2.67 (2H, dt, J=6.0, 6.0Hz), 2.78 (1H, dd, J=9.5, 13.5Hz), 2.88 - 3.08 (3H, m), 3.42 (1H, d, J=1.5Hz), 3.64 (1H, d, J=1.5Hz), 4.17 (2H, m), 4.49 (1H, m), 7.16 - 7.30 (5H, m), 7.39 (2H, d, J=8.0Hz), 7.47 (1H, t, J=6.0Hz), 7.67 (2H, d, J=8.0Hz), 8.08 (1H, t, J=6.0Hz), 8.65 (1H, d, J=8.5Hz)

30 【0124】実施例 36 N-トシル-N'-[N-[(2S,3S)-3-トランス-カルボキシオキシラン-2-カルボニル]-L-フェニルアラニル]-1,4-ジアミノブタン・モノナトリウム塩化合物 32 (934 mg) を実施例 27 と同様に、エチルエステルをアルカリ加水分解後、ダイヤイオン HP-20 を用いて精製し、標記化合物 (化合物 33; 890 mg) を得た (收率 96%)。

※調整後、酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、濃縮乾固して油状物 (640 mg) を得た。得られた油状物をエタノール (25 ml) に溶解後、濃硫酸 (212 μ l) を加え 1 時間還流した。反応液を氷冷水に加え、酢酸エチルで抽出後、飽和炭酸水素ナトリウム水、飽和食塩水で順次洗浄した。無水硫酸ナトリウムで乾燥後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (100 ml) に付し、クロロホルム中メタノール溶出画分より、標記化合物 (化合物 34; 290 mg) を白色粉末として得た (收率 50%)。

$[\alpha]_D + 46'$ (c 0.61, MeOH, 24°C)

元素分析値 $C_{22}H_{28}N_2O_6$ として

計算値 C; 61.73, H; 7.43, N; 9.39

実験値 C; 61.30, H; 7.46, N; 9.32

1H NMR δ ppm (DMSO-d₆)

0.84 (3H, t, J=7.5Hz), 1.22 (3H, t, J=7.0Hz), 1.23 - 1.42 (4H, m), 1.50 (2H, m), 2.02 (2H, t, J=7.5Hz), 2.79 (1H, dd, J=9.0, 14.0Hz), 2.90 - 3.13 (5H, m), 3.42 (1H, d, J=2.0Hz), 3.64 (1H, d, J=2.0Hz), 4.10 - 4.23 (2H, m), 4.50 (1H, ddd, J=5.0, 9.0, 9.0Hz), 7.13 - 7.32 (5H, m), 7.72 (1H, t, J=5.5Hz), 8.11 (1H, t, J=5.5Hz), 8.65 (1H, d, J=9.0Hz)

【0125】実施例38 N-ブチリル-N'-[N-[(2S,3S)-3-トランス-カルボキシオキシラン-2-カルボニル]-L-フェニルアラニル]-1,4-ジアミノブタン・モノナトリウム塩

化合物34 (122 mg) を実施例27と同様に、エチルエステルをアルカリ加水分解し、樹脂で脱塩後、濃縮、凍結乾燥し、標記化合物(化合物35; 62 mg)を白色粉末として得た(收率 51%)。

$[\alpha]_D + 36'$ (c 0.53, H₂O, 24°C)

元素分析値 $C_{18}H_{28}N_2O_6Na \cdot 2H_2O$ として

計算値 C; 52.82, H; 6.75, N; 8.80

実験値 C; 53.24, H; 6.70, N; 8.92

1H NMR δ ppm (D₂O)

0.91 (3H, t, J=7.5Hz), 1.20 - 1.44 (4H, m), 1.61 (2H, m), 2.22 (2H, t, J=7.5Hz), 2.98 - 3.25 (6H, m), 3.25 (1H, d, J=2.0Hz), 3.52 (1H, d, J=2.0Hz), 4.55 (1H, t, J=8.0Hz), 7.22 - 7.46 (5H, m)

【0126】実施例39 N-Z-N'-[N-[(2S,3S)-3-ト

ラス-エトキシカルボニルオキシラン-2-カルボニル]-o-フルオロ-L-フェニルアラニル]-1,4-ジアミノブタン

o-フルオロ-L-フェニルアラニン (1.00 g, 和光純薬工業社製) をジオキサン(10 ml)、水(5 ml)の混合溶媒に溶解し、氷冷下攪拌しながら、1N水酸化ナトリウム水(5.46 ml)およびニ炭酸ジ-tert-ブチル(1.38 ml)を加えた後、室温で1時間攪拌した。反応液を濃縮後、pH 2.5に調整し、酢酸エチル(100 ml x3)で抽出した。酸酸エチル層を水、飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。濃縮後、酢酸エチル-石油エーテルから結晶化し、N-Boc-o-フルオロ-L-フェニルアラニン(1.32 g)を無色結晶として得た(收率 85%)。この一部(1.20 g)とN-Z-1,4-ジアミノブタン(847 mg)を実施例5と同様に縮合しN-(Boc-o-フルオロ-L-フェニルアラニル)-N'-Z-1,4-ジアミノブタン(1.77 g)を白色粉末として得た(收率 95%)。Boc基をTFAで脱保護後、参考例8の(2S,3S)-エチル・ハイドロゲン・トランス-エポキシスクシネット(522 mg)と縮合し、標記化合物(化合物36; 1.39 g)を白色粉末として得た(收率 81%)。

$[\alpha]_D + 13'$ (c 0.56, CHCl₃, 22°C)

元素分析値 $C_{22}H_{28}N_2O_6F \cdot 0.25CHCl_3$ として

計算値 C; 58.51, H; 5.81, N; 7.51, F; 3.40

実測値 C; 58.59, H; 5.83, N; 7.60, F; 3.50

1H NMR δ ppm (CDCl₃)

1.30 (3H, t, J=7.2Hz), 1.45 (4H, m), 3.05 (1H, dd, J=8.2, 1.9Hz), 3.17 (5H, m), 3.22 (1H, d, J=1.9Hz), 3.62 (1H, d, J=1.9Hz), 4.24 (2H, m), 4.62 (1H, m), 4.92 (1H, br s), 5.10 (2H, s), 6.34 (1H, br s), 6.84 (1H, d, J=8.1Hz), 7.06 (2H, m), 7.21 (2H, m), 7.35 (5H, m)

【0127】実施例40 N-Z-N'-{N-[(2S,3S)-3-トラス-カルボキシオキシラン-2-カルボニル]-o-フルオロ-L-フェニルアラニル}-1,4-ジアミノブタン

実施例6と同様に化合物36 (1.29 g)をアルカリ加水分解し、標記化合物(化合物37; 1.07 g)を白色粉末として得た(收率 88%)。

元素分析値 $C_{22}H_{28}N_2O_6F \cdot 0.25H_2O$ として

計算値 C; 59.34, H; 5.68, N; 8.30, F; 3.75

実測値 C; 59.32, H; 5.66, N; 8.22, F; 3.76

1H NMR δ ppm (DMSO-d₆)

1.32 (4H, m), 2.84 (1H, dd, J=9.0, 13.9Hz), 2.96 (4H, m), 3.06 (1H, dd, J=5.9, 13.9Hz), 3.30 (1H, d, J=1.8Hz), 3.59 (1H, d, J=1.8Hz), 4.55 (1H, dt, J=6.0, 8.8Hz), 5.00 (2H, s), 7.11 (2H, m), 7.24 (3H, m), 7.34 (5H, m), 8.10 (1H, t, J=5.6Hz), 8.59 (1H, d, J=8.7Hz)

実施例41 N-(N-[(2S,3S)-3-トラス-カルボキシオキシラン-2-カルボニル]-o-フルオロ-L-フェニルアラニル)-1,4-ジアミノブタン

化合物37 (970 mg)を実施例7と同様に、接触還元によりZ基を脱保護した後、凍結乾燥し、標記化合物(化合物38; 670 mg)を白色粉末として得た(收率 94%)。

$[\alpha]_D + 46'$ (c 0.52, 0.1N HCl, 25°C)

元素分析値 $C_{18}H_{28}N_2O_6 \cdot 0.8H_2O$ として

計算値 C; 53.48, H; 6.23, N; 11.01, F; 4.98

実測値 C; 53.43, H; 6.03, N; 10.83, F; 4.88

1H NMR δ ppm (D₂O)

1.50 (4H, m), 2.95 (2H, t, J=7.3Hz), 3.07 (1H, dd, J=8.1, 13.9Hz), 3.15 (2H, m), 3.19 (1H, m), 3.25 (1H, d, J=1.9Hz), 3.50 (1H, d, J=2.1Hz), 4.57 (1H, dd, J=7.6, 7.9Hz), 7.18 (2H, m), 7.30 (2H, m)

【0128】実施例42 N-Z-N'-{N-[(2S,3S)-3-トラス-エトキシカルボニルオキシラン-2-カルボニル]-N-トシリル-L-ヒスチジル}-1,4-ジアミノブタン

実施例5と同様にN-Z-1,4-ジアミノブタン(1.20 g)とBoc-N^{2a}-トシリル-L-ヒスチジン(2.44 g, ペプチド研究所製)とを縮合しN-(Boc-N^{2a}-トシリル-L-ヒスチジル)-N'-Z-1,4-ジアミノブタン(3.27 g)を白色粉末として得た(收率 99%)。Boc基をTFAで脱保護後、参考例8の(2S,3S)-エチル・ハイドロゲン・トランス-エポキシ

スクシネート (776 mg) と縮合し、標記化合物(化合物 39; 2.42g)を白色粉末として得た(収率 84%)。

〔 α 〕_D + 31' (c 0.54, CHCl₃, 22°C)

元素分析値 C₁₉H₂₇N₅O₅S·H₂O として

計算値 C; 55.26, H; 5.83, N; 10.40, S; 4.76

実測値 C; 55.23, H; 5.52, N; 10.39, S; 4.74

¹H NMR δ ppm (CDCl₃)

1.31 (3H, t, J=7.1Hz), 1.42 (4H, m), 2.44 (3H, s), 2.83 (1H, dd, J=6.4, 14.8Hz), 3.02 (1H, dd, J=5.4, 14.8Hz), 3.16 (4H, m), 3.54 (1H, d, J=1.8Hz), 3.67 (1H, d, J=1.8Hz), 4.26 (2H, m), 4.59 (1H, m), 5.00 (1H, br s), 5.10 (2H, s), 6.80 (1H, br s), 7.09 (1H, m), 7.27 - 7.39 (7H, m), 7.51 (1H, d, J=7.3Hz), 7.81 (2H, d, J=8.4Hz), 7.94 (1H, d, J=1.2Hz)

【0129】実施例 4 3 N-Z-N'-(N-[(2S, 3S)-3-トランス-カルボキシオキシラン-2-カルボニル]-L-ヒスチジル)-1,4-ジアミノブタン

実施例 6 と同様に化合物 39 (2.30 g) をアルカリ加水分解し、標記化合物(化合物 40; 1.46 g)を白色粉末として得た(収率 88%)。

元素分析値 C₂₀H₂₇N₅O₅·2H₂O として

計算値 C; 51.86, H; 6.13, N; 13.75

実測値 C; 51.89, H; 6.09, N; 13.86

¹H NMR δ ppm (D₂O)

1.37 (4H, m), 3.07 (6H, m), 3.27 (1H, d, J=2.0Hz), 3.51 (1H, d, J=2.0Hz), 4.57 (1H, dd, J=6.7, 8.0Hz), 5.08 (2H, s), 7.05 (1H, s), 7.39 (5H, m), 8.02 (1H, s)

【0130】実施例 4 4 N-(N-[(2S, 3S)-3-トランス-カルボキシオキシラン-2-カルボニル]-L-ヒスチジル)-1,4-ジアミノブタン

化合物 40 (960 mg) を実施例 7 と同様に、接触還元により Z 基を脱保護した後、凍結乾燥し、標記化合物(化合物 41; 455 mg)を白色粉末として得た(収率 47%)。

〔 α 〕_D + 22' (c 0.57, 0.1N HCl, 22°C)

元素分析値 C₁₉H₂₇N₅O₅·2.6H₂O として

計算値 C; 43.54, H; 6.84, N; 18.14

実測値 C; 43.45, H; 6.89, N; 18.10

¹H NMR δ ppm (D₂O)

1.61 (4H, m), 3.03 (2H, t, J=7.3Hz), 3.15 (1H, dd, J=8.9, 15.2Hz), 3.26 (3H, m), 3.34 (1H, d, J=2.0Hz), 3.57 (1H, d, J=2.1Hz), 4.67 (1H, dd, J=6.0, 8.9Hz), 7.25 (1H, br s), 8.39 (1H, d, J=1.1Hz)

【0131】実施例 4 5 N-Z-N'-(N-[(2S, 3S)-3-トランス-エトキシカルボニルオキシラン-2-カルボニル]-N-ε-Z-L-リジル)-1,4-ジアミノブタン

実施例 5 と同様に N-Z-1,4-ジアミノブタン (1.20 g) と Boc-L-Lys(Z)-OH (2.26 g, ペプチド研究所製) とを縮合し N-(Boc-N-ε-Z-L-リジル)-N'-Z-1,4-ジアミノブタン (3.32 g) を白色粉末として得た(収率 定量的)。

Boc 基を TFA で脱保護後、参考例 8 の (2S, 3S)-エチル・ハイドロゲン・トランス-エポキシスクシネート (661 mg) と縮合し、標記化合物(化合物 42; 2.11 g)を白色粉末として得た(収率 82%)。

〔 α 〕_D + 10' (c 0.60, CHCl₃, 22°C)

元素分析値 C₂₀H₂₇N₅O₅·0.5H₂O として

計算値 C; 60.46, H; 6.82, N; 8.81

実測値 C; 60.30, H; 6.65, N; 8.85

¹H NMR δ ppm (CDCl₃)

10 1.30 (3H, t, J=7.2Hz), 1.30 (2H, m), 1.52 (6H, m), 1.62 (1H, m), 1.83 (1H, m), 3.17 (4H, m), 3.26 (2H, m), 3.51 (1H, d, J=1.6Hz), 3.68 (1H, d, J=1.8Hz), 4.25 (2H, m), 4.32 (1H, m), 4.98 (1H, m), 5.08 (5H, m), 6.44 (1H, br s), 6.89 (1H, d, J=7.2Hz), 7.34 (10H, m)

【0132】実施例 4 6 N-Z-N'-(N-[(2S, 3S)-3-トランス-カルボキシオキシラン-2-カルボニル]-N-ε-Z-L-リジル)-1,4-ジアミノブタン

実施例 6 と同様に化合物 42 (2.00 g) をアルカリ加水分解し、標記化合物(化合物 43; 1.40 g)を白色粉末として得た(収率 73%)。

元素分析値 C₂₀H₂₇N₅O₅·0.3CHCl₃ として

計算値 C; 57.36, H; 6.08, N; 8.83

実測値 C; 57.30, H; 6.13, N; 8.99

¹H NMR δ ppm (DMSO-d₆ + D₂O)

1.23 (2H, m), 1.38 (6H, m), 1.58 (2H, m), 2.98 (6H, m), 3.11 (1H, d, J=1.9Hz), 3.37 (1H, d, J=1.9Hz), 4.19 (1H, m), 5.00 (4H, s), 7.35 (10H, m), 8.09 (1H, t, J=5.4Hz), 8.22 (1H, d, J=8.0Hz)

【0133】実施例 4 7 N-Z-N'-(0-ベンジル-N-[(2S, 3S)-3-トランス-エトキシカルボニルオキシラン-2-カルボニル]-L-セリル)-1,4-ジアミノブタン

実施例 5 と同様に N-Z-1,4-ジアミノブタン (1.20 g) と Boc 基を TFA で脱保護後、参考例 8 の (2S, 3S)-エチル・ハイドロゲン・トランス-エポキシスクシネート (677 mg) と縮合し、標記化合物(化合物 44; 1.67 g)を白色粉末として得た(収率 73%)。

40 〔 α 〕_D + 41' (c 0.55, CHCl₃, 22°C)

元素分析値 C₂₀H₂₇N₅O₅·0.5H₂O として

計算値 C; 61.08, H; 6.59, N; 7.63

実測値 C; 60.91, H; 6.31, N; 7.77

¹H NMR δ ppm (CDCl₃)

1.30 (3H, t, J=7.1Hz), 1.48 (4H, m), 3.15 (2H, m), 3.27 (2H, m), 3.44 (1H, d, J=1.8Hz), 3.48 (1H, dd, J=7.5, 9.1Hz), 3.69 (1H, d, J=1.9Hz), 3.82 (1H, dd, J=4.3, 9.2Hz), 4.25 (2H, m), 4.48 (1H, d, J=11.8Hz), 4.49 (1H, m), 4.57 (1H, d, J=11.8Hz), 4.88 (1H, br s), 5.09 (2H, s), 6.60 (1H, br s), 7.05 (1H, d, J=6.8Hz), 7.34 (1

50 H, s)

OH, m)

【0134】実施例48 N-Z-N'-{0-ベンジル-N-[{(2S, 3S)-3-トランス-カルボキシオキシラン-2-カルボニル]-L-セリル}-1, 4-ジアミノブタン

実施例6と同様に化合物44 (1.55 g) をアルカリ加水分解し、標記化合物(化合物45; 1.30 g)を白色粉末として得た(收率89%)。

元素分析値 $C_{18}H_{26}N_6O_6 \cdot 0.67H_2O$ として

計算値 C; 59.42, H; 6.20, N; 8.00

実測値 C; 59.44, H; 6.09, N; 7.79

1H NMR δ ppm (DMSO- d_6)

1.38 (4H, m), 2.97 (2H, m), 3.05 (2H, m), 3.46 (1H, d, $J=1.8$ Hz), 3.60 (2H, m), 3.75 (1H, d, $J=1.8$ Hz), 4.48 (2H, s), 4.52 (1H, m), 4.99 (2H, s), 7.23 (1H, t, $J=5.5$ Hz), 7.33 (10H, m), 8.12 (1H, t, $J=5.7$ Hz), 8.67 (1H, d, $J=8.2$ Hz)

【0135】実施例49 N-(0-ベンジル-N-[{(2S, 3S)-3-トランス-カルボキシオキシラン-2-カルボニル]-L-セリル}-1, 4-ジアミノブタン(化合物46)、N-[N-[{(2S, 3S)-3-トランス-カルボキシオキシラン-2-カルボニル]-L-セリル}-1, 4-ジアミノブタン

(化合物47)化合物45 (800 mg)を実施例7と同様に、接触還元によりZ基を脱保護した後、H P-20 (100 mL)のカラムクロマトグラフィーに付し、水溶出画分を凍結乾燥し、化合物47 (310 mg)を白色粉末として得(收率69%)、また50%(v/v)メタノール溶出画分を凍結乾燥し、化合物46 (60.0 mg)を白色粉末として得た(收率10%)。

化合物46

$[\alpha]_D + 33^\circ$ (c 0.61, 0.1N HCl, 25°C)

元素分析値 $C_{18}H_{26}N_6O_6 \cdot 1.1H_2O$ として

計算値 C; 54.15, H; 6.87, N; 10.53

実測値 C; 54.01, H; 6.76, N; 10.56

1H NMR δ ppm (D₂O)

1.57 (4H, m), 2.95 (2H, m), 3.23 (2H, m), 3.39 (1H, d, $J=2.1$ Hz), 3.58 (1H, d, $J=2.0$ Hz), 3.81 (1H, dd, $J=4.8, 1.0.5$ Hz), 3.87 (1H, dd, $J=5.6, 10.5$ Hz), 4.49 (1H, dd, $J=4.9, 5.4$ Hz), 4.56 (1H, d, $J=12.0$ Hz), 4.60 (1H, d, $J=12.0$ Hz), 7.41 (5H, m)

化合物47

$[\alpha]_D + 30^\circ$ (c 0.53, 0.1N HCl, 25°C)

元素分析値 $C_{18}H_{26}N_6O_6 \cdot 0.5H_2O$ として

計算値 C; 44.29, H; 6.76, N; 14.09

実測値 C; 44.37, H; 6.68, N; 14.10

1H NMR δ ppm (D₂O)

1.61 (4H, m), 3.01 (2H, m), 3.27 (2H, m), 3.44 (1H, d, $J=2.1$ Hz), 3.63 (1H, d, $J=2.1$ Hz), 3.88 (2H, d, $J=5.4$ Hz), 4.40 (1H, t, $J=5.1$ Hz)

【0136】実施例50 N-Boc-N'-{S-トリチル-N-[{(2S, 3S)-3-トランス-エトキシカルボニルオキシラン-2-カ

ルボニル]-L-システィニル}-1, 4-ジアミノブタン N-Z-1, 4-ジアミノブタン (10.0 g)をジクロロメタン (100 mL)に溶解後、二炭酸ジ-tert-ブチル (10.3 mL)を加え、室温で1時間搅拌後、一夜放置した。反応液を10%クエン酸水、水、飽和炭酸水素ナトリウム水、水、飽和食塩水でそれぞれ洗净し、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、濃縮乾固し、N-Z-N'-Boc-1, 4-ジアミノブタン (14.6 g)を白色粉末として得た(收率定量的)。この一部 (1.74 g)をメタノール (60 mL)に溶解後、パラジウム活性炭素 [10%(w/w), 180 mg]を加え、水素雰囲気下、室温で2時間搅拌した。触媒を滤去し、滤液を濃縮乾固して、N-Boc-1, 4-ジアミノブタン (1.02 g)を白色粉末として得た(收率定量的)。得られた化合物を実施例5と同様にFmoc-S-トリチル-L-システィン (3.48 g, ペプチド研究所製)と縮合しN-(Fmoc-S-トリチル-L-システィニル)-N'-Boc-1, 4-ジアミノブタン (3.25 g)を白色粉末として得た(收率80%)。この一部 (3.15 g)をジクロロメタン (28.8 mL)に溶解後、ピペリジン (3.2 mL)を加え室温で1時間搅拌した。反応液を濃縮後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (200 mL)に付し、50%(v/v)酢酸エチル/ヘキサンで洗净後、100%メタノールで溶出、濃縮乾固し、N-(S-トリチル-L-システィニル)-N'-Boc-1, 4-ジアミノブタン (1.92 g)を白色粉末として得た(收率86%)。この一部 (1.82 g)を参考例8の(2S, 3S)-エチル・ハイドロゲン・トランス-エポキシスクリネート (546 mg)と縮合し、標記化合物(化合物48; 1.55 g)を白色粉末として得た(收率67%)。

$[\alpha]_D + 30^\circ$ (c 0.51, CHCl₃, 22°C)

30 元素分析値 $C_{18}H_{26}N_6O_6 \cdot 0.25CHCl_3$ として
計算値 C; 63.40, H; 6.46, N; 5.95, S; 4.54
実測値 C; 63.26, H; 6.40, N; 6.07, S; 4.53
 1H NMR δ ppm (CDCl₃)
1.32 (3H, t, $J=7.1$ Hz), 1.43 (9H, s), 1.46 (4H, m), 2.52 (1H, dd, $J=6.0, 13.0$ Hz), 2.65 (1H, dd, $J=7.4, 13.1$ Hz), 3.08 (2H, m), 3.18 (2H, m), 3.44 (1H, d, $J=1.8$ Hz), 3.61 (1H, d, $J=1.8$ Hz), 3.94 (1H, m), 4.26 (2H, m), 4.56 (1H, br s), 6.00 (1H, br s), 6.55 (1H, d, $J=7.9$ Hz), 7.20 - 7.44 (15H, m)

40 【0137】実施例51 N-Boc-N'-{S-トリチル-N-[{(2S, 3S)-3-トランス-カルボキシオキシラン-2-カルボニル]-L-システィニル}-1, 4-ジアミノブタン
実施例6と同様に化合物48 (1.45 g)をアルカリ加水分解し、標記化合物(化合物49; 1.32 g)を白色粉末として得た(收率95%)。元素分析値 $C_{18}H_{26}N_6O_6 \cdot 0.7H_2O$ として
計算値 C; 63.57, H; 6.48, N; 6.35, S; 4.85
実測値 C; 63.51, H; 6.47, N; 6.12, S; 4.79
 1H NMR δ ppm (DMSO- d_6)
50 1.32 (4H, m), 1.36 (9H, s), 2.34 (2H, d, $J=6.6$ Hz), 2.8

7 (2H, m), 2.99 (2H, m), 3.42 (1H, d, $J=1.8\text{Hz}$), 3.68 (1H, d, $J=1.8\text{Hz}$), 4.35 (1H, dt, $J=8.2, 6.6\text{Hz}$), 6.74 (1H, t, $J=5.6\text{Hz}$), 7.29 (15H, m), 8.06 (1H, t, $J=5.4\text{Hz}$), 8.74 (1H, d, $J=8.6\text{Hz}$)

【0138】実施例52 N-[S-トリチル-N-[(2S, 3S)-3-トランス-カルボキシオキシラン-2-カルボニル]-L-システィニル]-1,4-ジアミノブタン
化合物49 (600 mg) をジクロロメタン (10 mL) に溶解後、TFA (4 mL) を加え、室温で2時間放置した。反応液を濃縮後、2% 炭酸水素ナトリウム水を加え、pH 7.5 に調整後、クロロホルム：メタノール (2:1) の溶液で7回抽出した。水で洗净後、濃縮乾固し、標記化合物 (化合物50; 390 mg) を白色粉末として得た (收率 77%)。

$[\alpha]_D + 31'$ (c 0.74, MeOH, 26°C)

元素分析値 $C_{20}H_{32}N_4O_8S \cdot 2.5H_2O$ として

計算値 C; 60.79, H; 6.46, N; 7.09, S; 5.41

実測値 C; 60.66, H; 5.97, N; 7.14, S; 5.72

$^1\text{H NMR}$ δ ppm (DMSO- d_6)

1.44 (4H, m), 2.34 (1H, dd, $J=5.0, 11.7\text{Hz}$), 2.47 (1H, d, $J=9.2, 11.7\text{Hz}$), 2.72 (2H, m), 2.99 (2H, m), 3.05 (1H, d, $J=1.3\text{Hz}$), 3.36 (1H, d, $J=1.2\text{Hz}$), 4.18 (1H, dt, $J=5.3, 8.6\text{Hz}$), 7.30 (15H, m), 8.11 (2H, br s), 8.52 (1H, br s), 9.60 (1H, d, $J=8.3\text{Hz}$)

【0139】実施例53 N-Z-N'-{N-[(2S, 3S)-3-トランス-エトキシカルボニルオキシラン-2-カルボニル]-L-グルタミニル}-1,4-ジアミノブタン

実施例5と同様に N-Z-1,4-ジアミノブタン (1.57 g) と Boc-L-Gln-OH (1.92 g, ペプチド研究所製) とを縮合し N-(Boc-L-グルタミニル)-N'-Z-1,4-ジアミノブタン (3.06 g) を白色粉末として得た (收率 96%)。Boc 基を TFA で脱保護後、参考例8の (2S, 3S)-エチル・ハイドロゲン・トランス-エポキシスクシネット (602 mg) と縮合し、標記化合物 (化合物51; 734 mg) を白色粉末として得た (收率 44%)。

$[\alpha]_D + 44'$ (c 0.52, DMF, 24°C)

元素分析値 $C_{20}H_{32}N_4O_8$ として

計算値 C; 56.09, H; 6.55, N; 11.38

実測値 C; 55.80, H; 6.15, N; 11.63

$^1\text{H NMR}$ δ ppm (DMSO- d_6)

1.24 (3H, t, $J=7.0\text{Hz}$), 1.31 - 1.48 (4H, m), 1.63 - 1.95 (2H, m), 2.05 (2H, t, $J=7.5\text{Hz}$), 2.91 - 3.13 (4H, m), 3.60 (1H, d, $J=1.5\text{Hz}$), 3.71 (1H, d, $J=1.5\text{Hz}$), 4.11 - 4.27 (3H, m), 4.99 (2H, s), 6.74 (1H, br s), 7.21 (1H, t, $J=5.5\text{Hz}$), 7.21 - 7.41 (6H, m), 8.01 (1H, t, $J=5.0\text{Hz}$), 8.53 (1H, d, $J=8.0\text{Hz}$)

【0140】実施例54 N-Z-N'-{N-[(2S, 3S)-3-トランス-カルボキシオキシラン-2-カルボニル]-L-グルタミニル}-1,4-ジアミノブタン

実施例6と同様に化合物51 (665 mg) をアルカリ加水

分解した。反応液を濃縮し、水を加え pH 2.5 に調整後、酢酸エチル/イソブタノール (1:1) で抽出した。有機層を饱和食塩水で洗净後、濃縮して標記化合物 (化合物52; 284 mg) を白色粉末として得た (收率 45%)。

$[\alpha]_D + 35'$ (c 0.53, DMF, 24°C)

元素分析値 $C_{20}H_{32}N_4O_8 \cdot 2H_2O$ として

計算値 C; 50.40, H; 6.44, N; 11.19

実測値 C; 50.42, H; 5.74, N; 11.25

10 $^1\text{H NMR}$ δ ppm (DMSO- d_6)

1.30 - 1.46 (4H, m), 1.64 - 1.96 (2H, m), 2.05 (2H, t, $J=7.5\text{Hz}$), 2.90 - 3.11 (4H, m), 3.34 (1H, d, $J=1.5\text{Hz}$), 3.54 (1H, d, $J=1.5\text{Hz}$), 4.21 (1H, dt, $J=8.0, 5.0\text{Hz}$), 5.00 (2H, s), 6.76 (1H, br s), 7.22 - 7.41 (7H, m), 8.07 (1H, t, $J=5.5\text{Hz}$), 8.47 (1H, d, $J=8.0\text{Hz}$)

【0141】実施例55 N-[N-[(2S, 3S)-3-トランス-カルボキシオキシラン-2-カルボニル]-L-グルタミニル]-1,4-ジアミノブタン

化合物52 (400 mg) を実施例7と同様に、接触還元により Z 基を脱保護した後、凍結乾燥し標記化合物53 (284 mg) を白色粉末として得た (收率 定量的)。

$[\alpha]_D + 18'$ (c 0.55, H₂O, 20°C)

元素分析値 $C_{19}H_{30}N_4O_8 \cdot 4.5H_2O$ として

計算値 C; 37.95, H; 7.59, N; 13.62

実測値 C; 38.30, H; 6.40, N; 13.14

$^1\text{H NMR}$ δ ppm (D₂O)

1.50 - 1.70 (4H, m), 1.89 - 2.20 (2H, m), 2.38 (2H, t, $J=7.5\text{Hz}$), 2.98 (2H, t, $J=7.0\text{Hz}$), 3.25 (2H, t, $J=6.0\text{Hz}$), 3.46 (1H, d, $J=2.0\text{Hz}$), 3.58 (1H, d, $J=2.0\text{Hz}$), 4.28 (1H, dd, $J=5.0, 9.0\text{Hz}$)

【0142】実施例56 N-Z-N'-{ γ -ベンジル-N-[(2S, 3S)-3-トランス-エトキシカルボニルオキシラン-2-カルボニル]-L-グルタミル}-1,4-ジアミノブタン

実施例5と同様に N-Z-1,4-ジアミノブタン (1.00 g) と Boc-L-Glu(Bz1)-OH (1.67 g, ペプチド研究所製) とを縮合し N-(Boc- γ -ベンジル-L-グルタミル)-N'-Z-1,4-ジアミノブタン (2.43 g) を白色粉末として得た (收率 定量的)。Boc基を TFA で脱保護後、参考例8の (2S, 3S)-エチル・ハイドロゲン・トランス-エポキシスク

40 シネット (400 mg) と縮合し、標記化合物 (化合物54; 840 mg) を白色粉末として得た (收率 58%)。

$[\alpha]_D + 13'$ (c 0.60, CHCl₃, 24°C)

元素分析値 $C_{20}H_{32}N_4O_8$ として

計算値 C; 61.74, H; 6.39, N; 7.20

実測値 C; 61.29, H; 6.49, N; 7.10

$^1\text{H NMR}$ δ ppm (CDCl₃)

1.30 (3H, t, $J=7.0\text{Hz}$), 1.43 - 1.58 (4H, m), 1.85 - 2.02 (1H, m), 2.03 - 2.20 (1H, m), 2.38 (1H, dt, $J=17.0, 6.5\text{Hz}$), 2.52 (1H, dt, $J=17.0, 7.0\text{Hz}$), 3.10 - 3.32 (4H, m), 3.51 (1H, d, $J=2.0\text{Hz}$), 3.67 (1H, d, $J=2.0\text{Hz}$), 4.18

- 4.32 (2H, m), 4.42 (1H, dt, J=5.5, 7.5Hz), 4.98 (1H, t, J=5.5Hz), 5.09 (2H, s), 5.10 (1H, d, J=12.0Hz), 5.15 (1H, d, J=12.0Hz), 6.63 (1H, t, J=5.0Hz), 7.11 (1H, d, J=7.5Hz), 7.26 - 7.41 (10H, m)

【0143】実施例57 N-Z-N'-{ γ -メチル-N-[(2S,3S)-3-トランス-メトキシカルボニルオキシラン-2-カルボニル]-L-グルタミル}-1,4-ジアミノブタン

化合物54 (585 mg) をメタノール (60 ml) に溶解し、氷冷下 1N 水酸化ナトリウム水 (500 μ l) を加え、氷冷下 1 時間攪拌した。反応液を濃縮後、水を加え pH 2.5 に調整し、酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (50 ml) に付し、ヘキサン中酢酸エチルを順次添加した溶離液で溶出し、80%-10% (v/v) 酢酸エチル溶出画分より、標記化合物 (化合物55; 338 mg) を白色粉末として得た (收率 69%)。

1 H NMR δ ppm (DMSO-d₆)

1.30 - 1.46 (4H, m), 1.70 - 2.01 (2H, m), 2.30 (2H, t, J=7.5Hz), 2.90 - 3.12 (4H, m), 3.58 (3H, s), 3.65 (1H, d, J=2.0Hz), 3.72 (4H, m), 4.26 (1H, ddd, J=6.0, 8.0, 8.0Hz), 5.00 (2H, s), 7.24 (1H, t, J=5.5Hz), 7.26 - 7.42 (5H, m), 8.07 (1H, t, J=5.5Hz), 8.61 (1H, d, J=8.0Hz)

【0144】実施例58 N-{N-[(2S,3S)-3-トランス-エトキシカルボニルオキシラン-2-カルボニル]-L-フェニルアラニル}-1,4-ジアミノブタン・1/2硫酸塩

化合物1 (500 mg) をエタノール (20 ml) に溶解後、濃硫酸 (115 μ l) を加え、70 分間還流した。反応液を氷冷水に加え、pH 5.7 に調整後、CM-セファデックス C-25 (Na型、50 ml) のカラムクロマトグラフィーに付し、0.03M硫酸ナトリウム水で溶出した。溶出液をダイヤイオンHP-20 (30 ml) を用いて脱塩し、標記化合物 (化合物56; 503 mg) を白色粉末として得た (收率 82%)。

$[\alpha]_D + 54'$ (c 0.53, H₂O, 20°C)

元素分析値 C₁₉H₂₇N₃O₅・1/2H₂SO₄・H₂O として

計算値 C; 51.34, H; 6.80, N; 9.45, S; 3.61

実験値 C; 51.60, H; 6.80, N; 9.34, S; 3.66

1 H NMR δ ppm (D₂O)

1.29 (3H, t, J=7.0Hz), 1.36 - 1.57 (4H, m), 2.86 - 3.23 (6H, m), 3.47 (1H, d, J=2.0Hz), 3.72 (1H, d, J=2.0Hz), 4.27 (2H, q, J=7.0Hz), 4.57 (1H, t, J=8.0Hz), 7.23 - 7.44 (5H, m)

【0145】実施例59 N-{N-[(2S,3S)-3-トランス-エトキシカルボニルオキシラン-2-カルボニル]-L-フェニルアラニル}-1,4-ジアミノブタン・オクタヌルホン酸塩

実施例58と同様に化合物1 (309 mg) をエステル化し、CM-セファデックス C-25 (Na型、20 ml) のカラムクロマトグラフィーに付し、0.2M 食塩水で溶

出した。溶出液をダイヤイオンHP-20 (15 ml) を用いて脱塩し、N-{N-[(2S,3S)-3-トランス-エトキシカルボニルオキシラン-2-カルボニル]-L-フェニルアラニル}-1,4-ジアミノブタン・一塩酸塩 (315 mg) を得た (收率 88%)。得られた化合物 (105 mg) を、アンバーライト IRA-402 (オクタヌルホン酸型、5 ml) を充填したカラムを通過させ、水 (10 ml) で洗浄した。通過液と水洗液を合わせ、濃縮後、凍結乾燥して標記化合物 (化合物57; 127 mg) を白色粉末として得た。

10 $[\alpha]_D + 40'$ (c 0.67, MeOH, 24°C)

元素分析値 C₁₉H₂₇N₃O₅・C₆H₅SO₃H・0.5H₂O として

計算値 C; 55.84, H; 7.98, N; 7.24, S; 5.52

実験値 C; 55.66, H; 7.98, N; 7.19, S; 5.51

1 H NMR δ ppm (D₂O)

0.87 (3H, t, J=7.0Hz), 1.30 (3H, t, J=7.0Hz), 1.22 - 1.60 (14H, m), 1.66 - 1.80 (2H, m), 2.85 - 3.25 (8H, m), 3.49 (1H, d, J=2.0Hz), 3.74 (1H, d, J=2.0Hz), 4.29 (2H, q, J=7.0Hz), 4.58 (1H, t, J=8.0Hz), 7.24 - 7.46 (5H, m)

20 【0146】実施例60 N-{(0-ベンジル-N-[(2S,3S)-3-トランス-エトキシカルボニルオキシラン-2-カルボニル]-L-チロシル}モルホリン

実施例5と同様にモルホリン (1.41 ml) と Boc-L-Tyr (Bz1)-OH (6.00 g, ペプチド研究所製) とを縮合し N-(0-ベンジル-Boc-L-チロシル)モルホリン (8.10g) を白色粉末として得た (收率 定量的)。Boc 基を TFA で脱保護後、参考例8の (2S,3S)-エチル・ハイドロゲン・トランス-エポキシスクシネット (2.76 g) と縮合し、標記化合物 (化合物58; 6.14 g) を白色粉末として得た (收率 81%)。

20 $[\alpha]_D + 39'$ (c 0.58, CHCl₃, 24°C)

元素分析値 C₂₆H₃₀N₂O₇・0.7H₂O として

計算値 C; 63.07, H; 6.39, N; 5.66

実験値 C; 63.04, H; 6.00, N; 5.78

1 H NMR δ ppm (CDCl₃)

1.31 (3H, t, J=7.1Hz), 2.91 (2H, d, J=7.3Hz), 2.98 (1H, ddd, J=3.0, 6.5, 13.3Hz), 3.05 (1H, ddd, J=2.9, 6.6, 1.16Hz), 3.31 (1H, ddd, J=3.1, 6.7, 13.4Hz), 3.37 (1H, d, J=1.8Hz), 3.45 (1H, ddd, J=2.9, 6.4, 11.4Hz), 3.50 (1H, m), 3.55 (2H, t, J=4.3Hz), 3.60 (1H, m), 3.64 (1H, d, J=1.8Hz), 4.25 (2H, m), 5.05 (1H, m), 5.06 (2H, s), 6.91 (2H, d, J=8.6Hz), 6.95 (1H, d, J=8.8Hz), 7.07 (2H, d, J=8.6Hz), 7.40 (5H, m)

40 【0147】実施例61 N-{N-[(2S,3S)-3-トランス-エトキシカルボニルオキシラン-2-カルボニル]-L-チロシル}モルホリン

化合物58 (5.98 g) をエタノール (200 ml) に溶解後、パラジウム活性炭素 [10% (w/w), 600 mg] を加え、水素雰囲気下、室温で 5 時間攪拌した。触媒を濾去し、濃縮後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (500 ml)

1) に付し、クロロホルム中メタノールを順次添加した溶出液で展開し、2%(*v/v*) メタノール溶出画分から標記化合物 (化合物 59; 4.04 g) を白色粉末として得た (收率 83%)。[α]_D + 44' (c 0.55, CHCl₃, 25°C)

元素分析値 C₁₈H₂₂N₂O₄·0.27CHCl₃ として

計算値 C; 54.50, H; 5.76, N; 6.60

実測値 C; 54.44, H; 5.63, N; 6.64

¹H NMR δ ppm (CDCl₃)

1.31 (3H, t, J=7.2Hz), 2.87 (1H, dd, J=6.4, 13.5), 2.93 (1H, dd, J=8.0, 13.5), 3.08 (1H, ddd, J=2.9, 6.4, 13.0Hz), 3.17 (1H, ddd, J=2.9, 6.4, 11.3Hz), 3.38 (1H, ddd, J=2.9, 6.4, 12.9Hz), 3.39 (1H, d, J=1.8Hz), 3.51 (1H, dd d, J=2.9, 6.5, 11.4Hz), 3.57 (2H, m), 3.60 (2H, m), 3.66 (1H, d, J=1.8Hz), 4.25 (2H, m), 5.08 (1H, dt, J=8.1, 6.7Hz), 6.49 (1H, s), 6.75 (2H, d, J=8.5Hz), 7.00 (2H, d, J=8.5Hz), 7.08 (1H, d, J=8.3Hz)

【0148】実施例 6 2 N-[N-[(2S,3S)-3-トランス-カルボキシオキシラン-2-カルボニル]-L-チロシル]モルホリン・モノナトリウム塩

化合物 59 (300 mg) を実施例 2 7 と同様に、エチルエステルをアルカリ加水分解し、樹脂で脱塩後、濃縮、凍結乾燥し、標記化合物 (化合物 60; 233 mg) を白色粉末として得た (收率 79%)。

[α]_D + 72' (c 0.60, H₂O, 25°C)

元素分析値 C₁₈H₂₂N₂O₄·Na·H₂O として

計算値 C; 50.50, H; 5.23, N; 6.93, Na; 5.69

実測値 C; 50.68, H; 5.41, N; 7.04, Na; 5.70

¹H NMR δ ppm (D₂O)

2.93 (1H, dd, J=9.2, 13.3Hz), 2.96 (1H, m), 3.03 (1H, d d, J=6.6, 13.4Hz), 3.25 (1H, ddd, J=2.8, 5.3, 13.4Hz), 3.37 (1H, d, J=2.1Hz), 3.41 (1H, m), 3.44 (2H, m), 3.53 (1H, d, J=2.1Hz), 3.58 (2H, m), 3.67 (1H, m), 5.01 (1H, dd, J=6.6, 9.2Hz), 6.88 (2H, d, J=8.6Hz), 7.15 (2H, d, J=8.6Hz)

【0149】実施例 6 3 N-[N-[(2S,3S)-3-トランス-エトキシカルボニルオキシラン-2-カルボニル]-3-(3,4-ジヒドロキシフェニル)-L-アラニル]モルホリン
3-(3,4-ジヒドロキシフェニル)-L-アラニン (3.94 g, 東京化成社製) をジオキサン (40 ml)、水 (20 ml) の混合溶媒に溶解し、冰冷下攪拌しながら、1N 水酸化ナトリウム水 (20 ml) および二炭酸ジ-tert-ブチル (5.05 ml) を加えた後、室温で 1.6 時間攪拌した。反応液を濃縮後、pH 3.0 に調整し、酢酸エチル (100ml x 2) で抽出した。酢酸エチル層を水、飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。濃縮後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (200 ml) に付し、クロロホルム中メタノールおよび酢酸を順次添加した溶出液で展開し、5%メタノール (1% 酢酸含有) 溶出画分を濃縮、トルエンで酢酸を共沸させ、N-Boc-3-(3,4-ジヒドロキシフェニル)-L-アラニン (5.41 g) を白色粉末として得た

(收率 91%)。この一部 (3.00 g) を実施例 5 と同様に、モルホリン (883 μl) と縮合し N-[Boc-3-(3,4-ジヒドロキシフェニル)-L-アラニル]モルホリン (3.10 g) を白色粉末として得た (收率 84%)。Boc 基を 4N 塩酸/酢酸エチル (国産化学社製) で脱保護後、参考例 8 の (2S,3S)-エチル・ハイドロゲン・トランス-エポキシスルフィド (423 mg) と縮合し、標記化合物 (化合物 61; 626 mg) を白色粉末として得た (收率 58%)。

[α]_D + 46' (c 0.55, CHCl₃, 26°C)

10 元素分析値 C₁₈H₂₂N₂O₄ として

計算値 C; 55.88, H; 5.92, N; 6.86

実測値 C; 55.62, H; 6.06, N; 6.59

¹H NMR δ ppm (CDCl₃)

1.30 (3H, t, J=7.2Hz), 2.85 (2H, d, J=7.2Hz), 3.11 (2H, m), 3.36 (1H, m), 3.48 (1H, d, J=1.8Hz), 3.52 (3H, m), 3.61 (2H, m), 3.71 (1H, d, J=1.8Hz), 4.25 (2H, m), 5.07 (1H, dt, J=8.0, 7.4Hz), 6.55 (1H, dd, J=2.0, 8.1Hz), 6.70 (1H, d, J=1.9Hz), 6.79 (1H, d, J=8.0Hz), 7.33 (1H, d, J=8.2Hz)

20 【0150】実施例 6 4 N-[N-[(2S,3S)-3-トランス-カルボキシオキシラン-2-カルボニル]-3-(3,4-ジヒドロキシフェニル)-L-アラニル]モルホリン・モノナトリウム塩

化合物 61 (100 mg) を実施例 2 7 と同様に、エチルエステルをアルカリ加水分解後、pH 7 に調整、濃縮し、凍結乾燥した。これを分取液体クロマトグラフィー (カラム; YMC Pack D-ODS-5, 移動相; 7%(*v/v*) アセトニトリル/0.01 M リン酸緩衝液 pH 6.3, 流速; 10 ml/min, 検出; 214 nm) に付し、主ピークを集め、濃縮した。濃縮液を HPLC (10 ml) のカラムクロマトグラフィーに付し、水 (20 ml) で洗浄後、さらに水 (20 ml) で溶出した。溶出液を濃縮後、凍結乾燥して標記化合物 (化合物 62; 26.0 mg) を白色粉末として得た (收率 2.6%)。

¹H NMR δ ppm (D₂O)

2.83 (1H, m), 2.84 (1H, dd, J=9.7, 13.2Hz), 2.99 (1H, d d, J=6.2, 13.1Hz), 3.26 (1H, m), 3.37 (1H, d, J=2.0Hz), 3.40 (3H, m), 3.53 (1H, d, J=2.1Hz), 3.63 (4H, m), 4.98 (1H, dd, J=6.2, 9.7Hz), 6.68 (1H, dd, J=2.1, 8.1Hz),

40 6.76 (1H, d, J=2.0Hz), 6.87 (1H, d, J=8.1Hz)

実施例 6 5 N-[N-[(2S,3S)-3-トランス-エトキシカルボニルオキシラン-2-カルボニル]-L-フェニルグリシン]モルホリン

実施例 5 と同様に モルホリン (1.04 ml) と Boc-L-フェニルグリシン (3.00g, 国産化学社製) とを縮合し N-(Boc-L-フェニルグリシン)モルホリン (3.36 g) を白色粉末として得た (收率 88%)。Boc 基を TFA で脱保護後、参考例 8 の (2S,3S)-エチル・ハイドロゲン・トランス-エポキシスルフィド (486 mg) と縮合し、標記化合物 (化合物 63; 940 mg) を白色粉末として得た

(收率 85%)。

$[\alpha]_D + 171'$ (c 0.62, CHCl_3 , 25°C)

元素分析値 $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_6 \cdot 0.2\text{H}_2\text{O}$ として

計算値 C; 59.07, H; 6.17, N; 7.65

実測値 C; 59.11, H; 6.02, N; 7.21

$^1\text{H NMR}$ δ ppm (CDCl_3)

1.28 (3H, t, $J=7.1\text{Hz}$), 3.10 (1H, ddd, $J=3.0, 7.1, 11.4\text{Hz}$), 3.23 (1H, ddd, $J=2.9, 5.9, 13.3\text{Hz}$), 3.35 (1H, d, $J=1.8\text{Hz}$), 3.41 (1H, ddd, $J=3.0, 7.1, 13.3\text{Hz}$), 3.52 (1H, dd, $J=3.0, 6.0, 11.4\text{Hz}$), 3.57 (2H, m), 3.66 (1H, d, $J=1.8\text{Hz}$), 3.72 (2H, m), 4.22 (2H, m), 5.78 (1H, d, $J=7.3\text{Hz}$), 7.36 (5H, m), 7.63 (1H, d, $J=7.2\text{Hz}$)

【0151】実施例6 6 N-[$(2S, 3S)$ -3-トランス-カルボキシオキシラン-2-カルボニル]-L-フェニルグリシル}モルホリン・モノナトリウム塩

化合物6 3 (250 mg) を実施例2 7 と同様に、エチルエステルをアルカリ加水分解し、樹脂で脱塩後、濃縮、凍結乾燥し、標記化合物 (化合物6 4; 222 mg) を白色粉末として得た (收率 90%)。

$[\alpha]_D + 144'$ (c 0.59, H_2O , 25°C)

元素分析値 $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_6\text{Na} \cdot 0.5\text{H}_2\text{O}$ として

計算値 C; 52.61, H; 4.97, N; 7.67, Na; 6.29

実測値 C; 52.68, H; 5.21, N; 7.93, Na; 6.31

$^1\text{H NMR}$ δ ppm (D_2O)

3.19 (1H, m), 3.39 (1H, m), 3.43 (1H, d, $J=2.1\text{Hz}$), 3.58 (1H, d, $J=2.0\text{Hz}$), 3.60 (4H, m), 3.74 (2H, m), 5.90 (1H, s), 7.44 (5H, m)

実施例6 7 N-[$(2S, 3S)$ -3-トランス-エトキシカルボニルオキシラン-2-カルボニル]-L-ホモフェニルアラニル}モルホリン

実施例5 と同様に モルホリン (280 μl) と Boc-L-ホモフェニルアラニン (900 mg, パックム社製、スイス) とを縮合し N-(Boc-L-ホモフェニルアラニル)モルホリン (1.06 g) を白色粉末として得た (收率 95%)。Boc 基を 4N 塩酸/酢酸エチル で脱保護後、参考例8の (2S, 3S)-エチル・ハイドロゲン・トランス-エポキシスクシネート (338 mg) と縮合し、標記化合物 (化合物6 5; 630 mg) を白色粉末として得た (收率 77%)。

$[\alpha]_D + 53'$ (c 0.75, CHCl_3 , 26°C)

元素分析値 $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_6$ として

計算値 C; 61.53, H; 6.71, N; 7.17

実測値 C; 61.28, H; 6.84, N; 7.02

$^1\text{H NMR}$ δ ppm (CDCl_3)

1.33 (3H, t, $J=7.2\text{Hz}$), 1.92 (1H, dt, $J=14.2, 7.4\text{Hz}$), 2.04 (1H, ddd, $J=4.3, 7.8, 14.2\text{Hz}$), 2.62 (2H, dt, $J=1.5, 7.6\text{Hz}$), 3.22 (1H, ddd, $J=3.8, 6.0, 13.5\text{Hz}$), 3.34 (1H, ddd, $J=3.9, 5.7, 12.6\text{Hz}$), 3.59 (6H, m), 3.66 (1H, d, $J=1.9\text{Hz}$), 4.27 (2H, m), 4.91 (1H, dt, $J=4.3, 8.0\text{Hz}$), 7.01 (1H, d, $J=8.1\text{Hz}$), 7.25 (5H, m)

【0152】実施例6 8 N-[$(2S, 3S)$ -3-トランス-

カルボキシオキシラン-2-カルボニル]-L-ホモフェニルアラニル}モルホリン・モノナトリウム塩

化合物6 5 (100 mg) を実施例2 7 と同様に、エチルエステルをアルカリ加水分解し、樹脂で脱塩後、濃縮、凍結乾燥し、標記化合物 (化合物6 6; 94.9 mg) を白色粉末として得た (收率 96%)。

$[\alpha]_D + 35'$ (c 0.56, H_2O , 26°C)

元素分析値 $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_6\text{Na} \cdot 1.2\text{H}_2\text{O}$ として

計算値 C; 53.25, H; 5.81, N; 6.90, Na; 5.66

10 実測値 C; 53.25, H; 5.82, N; 7.08, Na; 5.86

$^1\text{H NMR}$ δ ppm (D_2O)

2.04 (2H, m), 2.65 (1H, dt, $J=14.4, 7.3\text{Hz}$), 2.80 (1H, dt, $J=14.2, 6.7\text{Hz}$), 3.27 (1H, dt, $J=13.9, 5.0\text{Hz}$), 3.37 (1H, dt, $J=13.5, 4.7\text{Hz}$), 3.40 (1H, d, $J=2.0\text{Hz}$), 3.52 (2H, m), 3.55 (1H, d, $J=2.0\text{Hz}$), 3.63 (2H, t, $J=4.8\text{Hz}$), 3.68 (2H, t, $J=4.9\text{Hz}$), 4.65 (1H, dd, $J=5.0, 8.7\text{Hz}$), 7.33 (5H, m)

実施例6 9 N-[$(2S, 3S)$ -3-トランス-エトキシカルボニルオキシラン-2-カルボニル]-p-クロロ-L-フェニルアラニル}モルホリン

実施例5 と同様に モルホリン (257 μl) と Boc-p-クロロ-L-フェニルアラニン (800 mg, パックム社製、スイス) とを縮合し N-(Boc-p-クロロ-L-フェニルアラニル)モルホリン (913 mg) を無色油状物として得た (收率 93%)。Boc 基を 4N 塩酸/酢酸エチル で脱保護後、参考例8の (2S, 3S)-エチル・ハイドロゲン・トランス-エポキシスクシネート (238 mg) と縮合し、標記化合物 (化合物6 7; 357 mg) を白色粉末として得た (收率 58%)。

30 $[\alpha]_D + 43'$ (c 0.51, CHCl_3 , 24°C)

元素分析値 $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_6\text{Cl} \cdot 0.5\text{H}_2\text{O}$ として

計算値 C; 54.35, H; 5.76, N; 6.67, Cl; 8.44

実測値 C; 54.51, H; 5.59, N; 6.78, Cl; 8.59

$^1\text{H NMR}$ δ ppm (CDCl_3)

1.32 (3H, t, $J=7.1\text{Hz}$), 2.92 (1H, dd, $J=6.1, 13.3\text{Hz}$), 2.99 (1H, dd, $J=6.1, 13.3\text{Hz}$), 3.08 (1H, ddd, $J=3.0, 6.7, 13.1\text{Hz}$), 3.20 (1H, ddd, $J=3.0, 6.4, 11.5\text{Hz}$), 3.31 (1H, d, $J=1.9\text{Hz}$), 3.39 (1H, ddd, $J=3.0, 6.4, 13.1\text{Hz}$), 3.57 (5H, m), 3.63 (1H, d, $J=1.9\text{Hz}$), 4.26 (2H, m), 5.09 (1H, dt, $J=6.2, 8.2\text{Hz}$), 6.96 (1H, br d, $J=8.2\text{Hz}$), 7.10 (2H, d, $J=8.4\text{Hz}$), 7.29 (2H, d, $J=8.4\text{Hz}$)

【0153】実施例6 7 N-[$(2S, 3S)$ -3-トランス-カルボキシオキシラン-2-カルボニル]-p-クロロ-L-フェニルアラニル}モルホリン・モノナトリウム塩

化合物6 7 (100 mg) を実施例2 7 と同様に、エチルエステルをアルカリ加水分解し、樹脂で脱塩後、濃縮、凍結乾燥し、標記化合物 (化合物6 8; 92 mg) を白色粉末として得た (收率 93%)。

$[\alpha]_D + 66'$ (c 0.47, H_2O , 24°C)

50 元素分析値 $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_6\text{ClNa} \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$ として

計算値 C; 47.29, H; 4.90, N; 6.49, Cl; 8.21, Na; 5.32

実測値 C; 47.51, H; 5.07, N; 6.24, Cl; 7.86, Na; 5.41

¹H NMR δ ppm (D₂O)

3.06 (3H, m), 3.24 (1H, ddd, J=2.8, 6.0, 13.6Hz), 3.36 (1H, d, J=2.0Hz), 3.52 (4H, m), 3.54 (1H, d, J=2.0Hz), 3.65 (2H, m), 5.07 (1H, dd, J=7.2, 8.4Hz), 7.25 (2H, d, J=8.4Hz), 7.42 (2H, d, J=8.4Hz)

【0154】実施例71 N-[N-[(2S,3S)-3-トランス-エトキシカルボニルオキシラン-2-カルボニル]-p-フルオロ-L-フェニルアラニル]モルホリン

実施例5と同様にモルホリン (278 μl) と Boc-p-フルオロ-L-フェニルアラニン (900 mg, バッケム社製、スイス) とを縮合し N-(Boc-p-フルオロ-L-フェニルアラニル)モルホリン (1.02 g) を白色粉末として得た (收率 91%)。Boc 基を 4N 塩酸/酢酸エチルで脱保護後、参考例8の (2S,3S)-エチル・ハイドロゲン・トランス-エポキシスクシネート (333 mg) と縮合し、標記化合物 (化合物69; 520 mg) を白色粉末として得た (收率 63%)。

〔α〕_D + 43' (c 0.62, CHCl₃, 25°C)

元素分析値 C₁₉H₂₂N₂O₆F·0.25H₂O として

計算値 C; 57.21, H; 5.94, N; 7.02

実測値 C; 57.23, H; 5.92, N; 6.82

¹H NMR δ ppm (CDCl₃)

1.32 (3H, t, J=7.2Hz) 2.92 (1H, dd, J=6.1, 13.3Hz), 2.99 (1H, dd, J=8.2, 13.4Hz), 3.05 (1H, ddd, J=3.0, 6.7, 13.3Hz), 3.17 (1H, ddd, J=3.0, 6.5, 11.5Hz), 3.32 (1H, d, J=1.9Hz), 3.37 (1H, ddd, J=2.9, 6.5, 13.1Hz), 3.51 (1H, m), 3.57 (4H, m), 3.63 (1H, d, J=1.9Hz), 4.27 (2H, m), 5.08 (1H, dt, J=6.3, 8.2Hz), 6.90 (1H, d, J=7.6Hz), 7.01 (2H, m), 7.13 (2H, m)

【0155】実施例72 N-[N-[(2S,3S)-3-トランス-カルボキシオキシラン-2-カルボニル]-p-フルオロ-L-フェニルアラニル]モルホリン・モノナトリウム塩
化合物69 (100 mg) を実施例27と同様に、エチルエスティルをアルカリ加水分解し、樹脂で脱塩後、濃縮、凍結乾燥し、標記化合物 (化合物70; 95.6 mg) を白色粉末として得た (收率 97%)。

〔α〕_D + 67' (c 0.56, H₂O, 26°C)

元素分析値 C₁₉H₂₂N₂O₆FNa·0.5H₂O として

計算値 C; 51.39, H; 4.82, N; 7.05, F; 4.78, Na; 5.79

実測値 C; 51.31, H; 4.99, N; 7.20, F; 4.82, Na; 5.82

¹H NMR δ ppm (D₂O)

3.00 (1H, dd, J=8.5, 13.3Hz), 3.06 (1H, dd, J=7.0, 13.6Hz), 3.10 (1H, ddd, J=2.9, 7.1, 11.8Hz), 3.26 (1H, ddd, J=3.0, 6.3, 13.8Hz), 3.34 (1H, d, J=2.1Hz), 3.50 (4H,

m), 3.52 (1H, d, J=2.1Hz), 3.60 (1H, dd, J=3.2, 6.1, 1.1Hz), 5.05 (1H, dd, J=7.1, 8.4Hz), 7.12 (2H, m), 7.26 (2H, m)

実施例73 N-[N-[(2S,3S)-3-トランス-エトキシカルボニルオキシラン-2-カルボニル]-p-ニトロ-L-フェニルアラニル]モルホリン

実施例5と同様にモルホリン (290 μl) と Boc-p-ニトロ-L-フェニルアラニン (996 mg, バッケム社製、スイス) とを縮合し N-(Boc-p-ニトロ-L-フェニルアラニル)

10 モルホリン (1.22 g) を白色粉末として得た (收率 96%)。Boc 基を 4N 塩酸/酢酸エチルで脱保護後、参考例8の (2S,3S)-エチル・ハイドロゲン・トランス-エポキシスクシネート (465 mg) と縮合し、標記化合物 (化合物71; 878 mg) を白色粉末として得た (收率 81%)。

〔α〕_D + 33' (c 0.59, CHCl₃, 26°C)

元素分析値 C₁₉H₂₂N₂O₆ として

計算値 C; 54.15, H; 5.50, N; 9.97

実験値 C; 54.22, H; 5.51, N; 9.96

¹H NMR δ ppm (CDCl₃)

20 1.32 (3H, t, J=7.0Hz), 3.03 (1H, dd, J=6.5, 13.5Hz), 3.12 - 3.27 (1H, m), 3.18 (1H, dd, J=8.5, 13.5Hz), 3.26 (1H, d, J=2.0Hz), 3.35 (1H, ddd, J=2.5, 6.0, 11.0Hz), 3.42 - 3.75 (6H, m), 3.63 (1H, d, J=2.0Hz), 4.17 - 4.35 (2H, m), 5.17 (1H, ddd, J=6.5, 8.0, 8.0Hz), 6.97 (1H, d, J=8.0Hz), 7.35 (2H, d, J=9.0Hz), 8.20 (2H, d, J=9.0Hz)

【0156】実施例74 N-[N-[(2S,3S)-3-トランス-カルボキシオキシラン-2-カルボニル]-p-ニトロ-L-フェニルアラニル]モルホリン・モノナトリウム塩

化合物71 (260 mg) を実施例27と同様に、エチルエスティルをアルカリ加水分解し、樹脂で脱塩後、濃縮、凍結乾燥し、標記化合物 (化合物72; 250 mg) を得た (收率 98%)。

〔α〕_D + 54' (c 0.51, H₂O, 26°C)

元素分析値 C₁₉H₂₂N₂O₆Na·1.5H₂O として

計算値 C; 46.16, H; 4.78, N; 9.50

実験値 C; 46.15, H; 4.57, N; 9.78

¹H NMR δ ppm (D₂O)

3.20 (2H, d, J=7.5Hz), 3.21 - 3.41 (2H, m), 3.33 (1H, d, J=2.0Hz), 3.43 - 3.76 (6H, m), 3.53 (1H, d, J=2.0Hz), 5.17 (1H, t, J=7.5Hz), 7.50 (2H, d, J=9.0Hz), 8.24 (2H, d, J=9.0Hz)

【0157】実施例75 N-[N-[(2S,3S)-3-トランス-エトキシカルボニルオキシラン-2-カルボニル]-3-(2-チエニル)-L-アラニル]モルホリン
実施例5と同様にモルホリン (319 μl) と Boc-3-(2-チエニル)-L-アラニン (900 mg, バッケム社製、スイス) とを縮合し N-[Boc-3-(2-チエニル)-L-アラニル]モルホリン (1.13 g) を無色油状物として得た (收率 定量的)。Boc 基を 4N 塩酸/酢酸エチルで脱保護後、参考例8の (2S,3S)-エチル・ハイドロゲン・トランス-エポ

50

キシスクシネート (315 mg) と縮合し、標記化合物 (化合物 7 3; 563 mg) を白色粉末として得た (收率 75 %)。

〔 α 〕_D + 47' (c 0.53, CHCl₃, 24°C)

元素分析値 C₁₈H₂₂N₂O₆S として

計算値 C; 53.39, H; 5.80, N; 7.32, S; 8.38

実測値 C; 53.04, H; 5.69, N; 7.41, S; 8.41

¹H NMR δ ppm (CDCl₃)

1.32 (3H, t, J=7.1Hz), 3.17 (1H, dd, J=5.9, 14.6Hz), 3.26 (1H, dd, J=7.5, 14.6Hz), 3.30 (2H, m), 3.44 (1H, d, J=1.8Hz), 3.47 (1H, m), 3.54-3.70 (5H, m), 3.66 (1H, d, J=1.8Hz), 4.26 (2H, m), 5.11 (1H, ddd, J=5.9, 7.5, 8.0Hz), 6.83 (1H, dd, J=1.2, 3.4Hz), 6.96 (1H, dd, J=3.4, 5.2Hz), 7.04 (1H, br d, J=8.0Hz), 7.20 (1H, dd, J=1.2, 5.1Hz)

【0158】実施例 7 6 N-[N-[(2S,3S)-3-トランス-カルボキシオキシラン-2-カルボニル]-3-(2-チエニル)-L-アラニル]モルホリン・モノナトリウム塩

化合物 7 3 (114 mg) を実施例 2 7 と同様に、エチルエステルをアルカリ加水分解し、樹脂で脱塩後、濃縮、凍結乾燥し、標記化合物 (化合物 7 4; 98 mg) を白色粉末として得た (收率 85%)。

〔 α 〕_D + 57' (c 0.50, H₂O, 25°C)

元素分析値 C₁₈H₂₂N₂O₆Na·0.5H₂O として

計算値 C; 46.75, H; 4.71, N; 7.27, S; 8.32, Na; 5.97

実測値 C; 46.60, H; 4.89, N; 7.32, S; 8.48, Na; 5.83

¹H NMR δ ppm (D₂O)

3.31 (2H, d, J=7.4Hz), 3.33 (1H, m), 3.40 (1H, d, J=2.0Hz), 3.44-3.78 (7H, m), 3.55 (1H, d, J=2.0Hz), 5.10 (1H, t, J=7.4Hz), 6.98 (1H, dd, J=1.2, 3.4Hz), 7.05 (1H, dd, J=3.4, 5.2Hz), 7.36 (1H, dd, J=1.2, 5.2Hz)

【0159】実施例 7 7 N-[N-[(2S,3S)-3-トランス-エトキシカルボニルオキシラン-2-カルボニル]-3-シクロヘキシル-L-アラニル]モルホリン

実施例 5 と同様に モルホリン (210 μl) と Boc-3-シクロヘキシル-L-アラニン (590 mg, バッケム社製、イス) とを縮合し N-(Boc-3-シクロヘキシル-L-アラニル)モルホリン (702 mg) を無色油状物として得た (收率 95%)。Boc 基を4N 塩酸/酢酸エチルで脱保護後、参考例 8 の (2S,3S)-エチル・ハイドロゲン-トランス-エポキシスクシネート (210 mg) と縮合し、標記化合物 (化合物 7 5; 379 mg) を無色油状物として得た (收率 76%)。

〔 α 〕_D + 42' (c 0.57, CHCl₃, 25°C)

元素分析値 C₁₈H₂₂N₂O₆·0.5H₂O として

計算値 C; 58.30, H; 7.98, N; 7.16

実測値 C; 58.70, H; 7.90, N; 6.52

¹H NMR δ ppm (CDCl₃)

0.96 (2H, m), 1.27 (4H, m), 1.40 (3H, t, J=7.1Hz), 1.55 (2

H, m), 1.72 (4H, m), 1.99 (1H, br d, J=12.1Hz), 3.56 (1H, d, J=1.9Hz), 3.61 (2H, m), 3.75 (1H, d, J=1.9Hz), 3.76 (6H, m), 4.35 (2H, m), 5.05 (1H, dt, J=8.6, 7.1Hz), 7.00 (1H, br d, J=8.6Hz)

【0160】実施例 7 8 N-[N-[(2S,3S)-3-トランス-カルボキシオキシラン-2-カルボニル]-3-シクロヘキシル-L-アラニル]モルホリン・モノナトリウム塩

化合物 7 5 (100 mg) を実施例 2 7 と同様に、エチルエステルをアルカリ加水分解し、樹脂で脱塩後、濃縮、凍結乾燥し、標記化合物 (化合物 7 6; 90 mg) を白色粉末として得た (收率 91%)。

〔 α 〕_D + 48' (c 0.49, H₂O, 25°C)

元素分析値 C₁₈H₂₂N₂O₆Na·H₂O として

計算値 C; 51.77, H; 6.90, N; 7.10, Na; 5.83

実測値 C; 51.76, H; 7.16, N; 7.18, Na; 5.97

¹H NMR δ ppm (D₂O)

0.96 (2H, m), 1.20 (4H, m), 1.66 (7H, m), 3.44 (1H, d, J=2.0Hz), 3.58 (1H, d, J=2.0Hz), 3.67 (8H, m), 4.90 (1H, dd, J=4.7, 10.0Hz)

20 【0161】実施例 7 9 N-[N-[(2S,3S)-3-トランス-エトキシカルボニルオキシラン-2-カルボニル]-p-メトキシ-L-フェニルアラニル]モルホリン

化合物 5 9 (392 mg) を DMF (10 ml) に溶解後、炭酸カリウム (76 mg)、ヨウ化メチル (69 μl) を加え、室温で 1.4 時間搅拌し、さらにヨウ化メチル (280 μl) を加え、2.0 時間搅拌した。反応液を濃縮後、10% 塩化アンモニウム水を加えた後、酢酸エチルで抽出した。酢酸エチル層は、水、飽和食塩水で洗净後、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。これを、シリカゲルカラムクロマトグラフ

30 ラフィー (50 ml) に付し、1% (v/v) メタノール/クロロホルムで溶出後、濃縮し、標記化合物 (化合物 7 7; 10.7 mg) を無色油状物として得た (收率 26%)。

¹H NMR δ ppm (CDCl₃)

1.32 (3H, t, J=7.2Hz), 2.92 (2H, d, J=7.3Hz), 3.03 (1H, dd d, J=3.0, 6.5, 13.2Hz), 3.12 (1H, ddd, J=3.0, 6.5, 11.4Hz), 3.34 (1H, d, J=1.9Hz), 3.35 (1H, ddd, J=3.1, 6.5, 13.2Hz), 3.44 (1H, ddd, J=3.0, 6.5, 11.4Hz), 3.58 (4H, m), 3.63 (1H, d, J=1.9Hz), 3.80 (3H, s), 4.26 (2H, m), 5.06 (1H, d, t, J=8.0, 7.4Hz), 6.84 (2H, d, J=8.7Hz), 6.92 (1H, d, J=8.7Hz), 7.07 (2H, d, J=8.7Hz)

【0162】実施例 8 0 N-[N-[(2S,3S)-3-トランス-カルボキシオキシラン-2-カルボニル]-p-メトキシ-L-フェニルアラニル]モルホリン・モノナトリウム塩

化合物 7 7 (105 mg) を実施例 2 7 と同様に、エチルエステルをアルカリ加水分解し、樹脂で脱塩後、濃縮、凍結乾燥し、標記化合物 (化合物 7 8; 93 mg) を白色粉末として得た (收率 90%)。

〔 α 〕_D + 70' (c 0.51, H₂O, 25°C)

元素分析値 C₁₈H₂₂N₂O₆Na·0.5H₂O として

50 計算値 C; 52.81, H; 5.42, N; 6.84

実測値 C; 52.72, H; 5.66, N; 7.01

¹H NMR δ ppm (D₂O)

2.96 (2H, m), 3.04 (1H, dd, J=6.5, 13.3Hz), 3.23 (1H, m), 3.35 (1H, d, J=2.0Hz), 3.44 (3H, m), 3.52 (1H, d, J=2.0Hz), 3.56 (2H, m), 3.65 (1H, m), 3.82 (3H, s), 5.01 (1H, dd, J=6.9, 9.0Hz), 6.98 (2H, d, J=8.6Hz), 7.21 (2H, d, J=8.6Hz)

【0163】実施例81 N-[N-[(2S,3S)-3-トランス-エトキシカルボニルオキシラン-2-カルボニル]-3-(1-ナフチル)-L-アラニル]モルホリン

実施例5と同様にモルホリン(275 μl)とBoc-3-(1-ナフチル)-L-アラニン(970 mg, バッケム社製、スイス)とを縮合しN-[Boc-3-(1-ナフチル)-L-アラニル]モルホリン(1.18 g)を白色粉末として得た(收率定量的)。Boc基をTFAで脱保護後、参考例8の(2S,3S)-エチル・ハイドロゲン・トランス-エポキシスクシネート(620 mg)と縮合し、標記化合物(化合物79; 1.09 g)を白色粉末として得た(收率75%)。

〔α〕_D + 48' (c 0.60, CHCl₃, 26°C)

元素分析値 C₂₂H₂₆N₂O₆として

計算値 C; 64.78, H; 6.14, N; 6.57

実験値 C; 64.88, H; 6.25, N; 6.64

¹H NMR δ ppm (CDCl₃)

1.33 (3H, t, J=7.0Hz), 2.09 (1H, ddd, J=3.0, 8.0, 11.5Hz), 2.28 (1H, ddd, J=3.0, 5.5, 13.0Hz), 2.84 (1H, ddd, J=3.0, 8.0, 13.0Hz), 2.99 (1H, ddd, J=3.0, 5.5, 11.5Hz), 3.02 - 3.13 (1H, m), 3.21 - 3.35 (1H, m), 3.27 (1H, d, d, J=10.5, 13.0Hz), 3.41 - 3.54 (2H, m), 3.47 (1H, d, J=2.0Hz), 3.65 (1H, dd, J=5.0, 13.0Hz), 3.69 (1H, d, J=2.0Hz), 4.19 - 4.37 (2H, m), 5.31 (1H, ddd, J=5.0, 7.5, 10.5Hz), 7.18 (1H, d, J=7.5Hz), 7.33 (1H, dd, J=1.0, 7.5Hz), 7.41 (1H, t, J=7.5Hz), 7.52 (1H, ddd, J=1.0, 7.0, 8.0Hz), 7.61 (1H, ddd, J=1.5, 7.0, 8.5Hz), 7.81 (1H, d, J=8.0Hz), 7.87 (1H, dd, J=1.0, 8.0Hz), 8.24 (1H, d, J=8.5Hz)

【0164】実施例82 N-[N-[(2S,3S)-3-トランス-カルボキシオキシラン-2-カルボニル]-3-(1-ナフチル)-L-アラニル]モルホリン・モノナトリウム塩

化合物79(332 mg)を実施例27と同様に、エチルエステルをアルカリ加水分解し、樹脂で脱塩後、濃縮、凍結乾燥し、標記化合物(化合物80、309 mg)を得た(收率94%)。

〔α〕_D + 94' (c 0.59, H₂O, 26°C)

元素分析値 C₂₁H₂₅N₂O₆Na·1.5H₂Oとして

計算値 C; 56.37, H; 5.41, N; 6.26, Na; 5.14

実験値 C; 56.40, H; 5.28, N; 6.51

¹H NMR δ ppm (D₂O)

1.99 (1H, ddd, J=3.0, 8.5, 11.5Hz), 2.56 - 2.71 (1H, m), 2.85 (1H, ddd, J=3.0, 8.5, 11.5Hz), 2.94 - 3.23 (3H, m), 3.31 - 3.66 (4H, m), 3.41 (1H, d, J=2.0Hz), 3.59 (1H, d, J=2.0Hz), 5.18 (1H, dd, J=5.5, 10.5Hz), 7.38

(1H, d, J=7.0Hz), 7.50 (1H, t, J=7.5Hz), 7.54 - 7.69 (2H, m), 7.90 (1H, d, J=8.0Hz), 7.98 (1H, dd, J=2.0, 7.5Hz), 8.08 (1H, d, J=8.0Hz)

【0165】実施例83 N-[N-[(2S,3S)-3-トランス-エトキシカルボニルオキシラン-2-カルボニル]-3-(2-ナフチル)-L-アラニル]モルホリン

実施例5と同様にモルホリン(275 μl)とBoc-3-(2-ナフチル)-L-アラニン(900 mg, バッケム社製、スイス)とを縮合しN-[Boc-3-(2-ナフチル)-L-アラニル]モル

10 ホリン(1.10 g)を白色粉末として得た(收率定量的)。Boc基をトリフルオロ酢酸で脱保護後、参考例8の(2S,3S)-エチル・ハイドロゲン・トランス-エポキシスクシネート(312 mg)と縮合し、標記化合物(化合物81; 695mg)を白色粉末として得た(收率84%)。

〔α〕_D + 47' (c 0.53, CHCl₃, 24°C)

元素分析値 C₂₂H₂₆N₂O₆·0.5H₂Oとして

計算値 C; 63.44, H; 6.25, N; 6.43

実験値 C; 63.90, H; 6.16, N; 6.27

¹H NMR δ ppm (CDCl₃)

20 1.29 (3H, t, J=7.1Hz), 2.83 (1H, ddd, J=3.0, 6.7, 11.3Hz), 2.95 (1H, ddd, J=3.0, 6.9, 13.9Hz), 3.14 (2H, br d, J=7.6Hz), 3.32 (1H, d, J=1.9Hz), 3.35 (3H, m), 3.56 (3H, m), 3.64 (1H, d, J=1.9Hz), 4.23 (2H, m), 5.19 (1H, dt, J=6.9, 8.2Hz), 7.04 (1H, br d, J=8.2Hz), 7.29 (1H, dd, J=1.7, 8.4Hz), 7.48 (2H, m), 7.61 (1H, br s), 7.80 (3H, m)

【0166】実施例84 N-[N-[(2S,3S)-3-トランス-カルボキシオキシラン-2-カルボニル]-3-(2-ナフチル)-L-アラニル]モルホリン・モノナトリウム塩

化合物81(100 mg)を実施例27と同様に、エチルエステルをアルカリ加水分解し、樹脂で脱塩後、濃縮、凍結乾燥し、標記化合物(化合物82; 96 mg)を白色粉末として得た(收率97%)。

〔α〕_D + 78' (c 0.47, H₂O, 24°C)

元素分析値 C₂₁H₂₅N₂O₆Na·1.5H₂Oとして

計算値 C; 56.37, H; 5.41, N; 6.26, Na; 5.14

実験値 C; 56.22, H; 5.59, N; 6.07, Na; 5.17

¹H NMR δ ppm (D₂O)

2.55 (1H, m), 3.15 (4H, m), 3.35 (3H, m), 3.38 (1H, d, J=2.0Hz), 3.52 (2H, m), 3.55 (1H, d, J=2.0Hz), 5.08 (1H, dd, J=6.7, 9.2Hz), 7.39 (1H, dd, J=1.5, 8.5Hz), 7.57 (2H, m), 7.72 (1H, br s), 7.92 (3H, m)

【0167】実施例85 N-[N-[(2S,3S)-3-トランス-エトキシカルボニルオキシラン-2-カルボニル]-L-フェニルアラニル]チオモルホリン

実施例20と同様にN-[(2S,3S)-3-トランス-エトキシカルボニルオキシラン-2-カルボニル]-L-フェニルアラニン(1.00 g)とチオモルホリン(350 μl, 東京化成社製)を縮合し、標記化合物(化合物83; 1.00 g)を白色粉末として得た(收率78%)。

50 〔α〕_D + 53' (c 0.57, CHCl₃, 24°C)

元素分析値 $C_{19}H_{22}N_2O_5S \cdot 0.5H_2O$ として

計算値 C; 56.84, H; 6.28, N; 6.98, S; 7.99

実験値 C; 57.03, H; 5.99, N; 7.04, S; 8.44

1H NMR δ ppm (CDCl₃)

1.31 (3H, t, J=7.0Hz), 1.96 (1H, ddd, J=2.5, 7.5, 13.5Hz), 2.36 - 2.65 (3H, m), 2.94 (1H, dd, J=6.0, 13.0Hz), 3.02 (1H, dd, J=8.5, 13.0Hz), 3.33 (1H, d, J=2.0Hz), 3.43 (1H, ddd, J=2.5, 7.5, 14.0Hz), 3.57 (1H, ddd, J=2.5, 7.5, 14.0Hz), 3.63 (1H, d, J=2.0Hz), 3.82 (2H, t, J=5.0Hz), 4.16 - 4.34 (2H, m), 5.12 (1H, ddd, J=6.0, 8.5, 8.5Hz), 7.01 (1H, d, J=8.5Hz), 7.10 - 7.37 (5H, m)

【0168】実施例86 N-[N-(2S,3S)-3-トランス-カルボキシオキシラン-2-カルボニル]-L-フェニルアラニル]チオモルホリン・モノナトリウム塩

化合物83 (220 mg) を実施例27と同様に、エチルエステルをアルカリ加水分解し、樹脂で脱塩後、濃縮、凍結乾燥し、標記化合物 (化合物84; 133 mg)を得た (收率 62%)。

$[\alpha]_D + 58'$ (c 0.57, H₂O, 24°C)

元素分析値 $C_{19}H_{22}N_2O_5SNa \cdot H_2O$ として

計算値 C; 50.49, H; 5.23, N; 6.93

実験値 C; 50.70, H; 5.35, N; 7.00

1H NMR δ ppm (D₂O)

1.90 - 2.03 (1H, m), 2.42 - 2.68 (3H, m), 3.07 (2H, d, J=7.5Hz), 3.35 (1H, d, J=2.0Hz), 3.53 (1H, d, J=2.0Hz), 3.56 - 3.88 (4H, m), 5.09 (1H, t, J=7.5Hz), 7.23 - 7.48 (5H, m)

【0169】実施例87 N-Z-N'-{N-[(2S,3S)-3-トランス-n-プロピルカルバモイルオキシラン-2-カルボニル]-L-フェニルアラニル}-1,4-ジアミノブタン

化合物6 (300 mg) をDMF (10 mL) に懸濁後、氷冷下でn-プロピルアミン (56 μ l, 和光純薬工業社製), HOB T (92 mg), WSC (131 mg) を加えた後、室温で1.5時間攪拌した。反応液を濃縮乾固し、酢酸エチル (150 mL) を加え、10%クエン酸水、3%炭酸水素ナトリウム水、飽和食塩水で順次洗浄した。無水硫酸ナトリウムで乾燥後、濃縮乾固して得られた残渣にエーテルを加え、生じた析出物を濾取し、標記化合物 (化合物85; 303 mg)を得た (收率 93%)。

$[\alpha]_D + 37'$ (c 0.63, DMF, 24°C)

元素分析値 $C_{22}H_{28}N_4O_6 \cdot 0.5H_2O$ として

計算値 C; 63.02, H; 6.99, N; 10.50

実験値 C; 63.01, H; 6.99, N; 10.50

1H NMR δ ppm (DMSO-d₆)

0.83 (3H, t, J=7.5Hz), 1.34 (4H, m), 1.42 (2H, m), 2.79 (1H, dd, J=9.5, 13.5Hz), 2.90 - 3.12 (7H, m), 3.37 (1H, d, J=1.5Hz), 3.55 (1H, d, J=1.5Hz), 4.49 (1H, m), 5.00 (2H, s), 7.14 - 7.40 (11H, m), 8.11 (1H, t, J=5.5Hz), 8.31 (1H, t, J=5.5Hz), 8.72 (1H, d, J=8.5Hz)

【0170】実施例88 N-[N-(2S,3S)-3-トランス-

エトキシカルボニルオキシラン-2-カルボニル]-L-フェニルアラニル]-3-アミノ-1-プロペン

実施例20と同様に N-[(2S,3S)-3-トランス-エトキシカルボニルオキシラン-2-カルボニル]-L-フェニルアラニン (600 mg) と 3-アミノ-1-プロペン・塩酸塩 (201 mg, 和光純薬社製) を縮合し、標記化合物 (化合物86; 481 mg) を白色粉末として得た (收率 71%)。

$[\alpha]_D + 23'$ (c 0.51, CHCl₃, 25°C)

元素分析値 $C_{19}H_{22}N_2O_5 \cdot 0.1H_2O$ として

10 計算値 C; 62.09, H; 6.43, N; 8.05

実験値 C; 62.01, H; 6.38, N; 8.07

1H NMR δ ppm (CDCl₃)

1.30 (3H, t, J=7.2Hz), 3.02 (1H, dd, J=7.7, 13.7Hz), 3.09 (1H, dd, J=8.0, 13.8Hz), 3.10 (1H, d, J=1.9Hz), 3.62 (1H, d, J=1.9Hz), 3.81 (2H, m), 4.24 (2H, m), 4.57 (1H, dt, J=8.0, 7.6Hz), 5.08 (2H, m), 5.69 (1H, ddt, J=10.4, 17.0, 5.7Hz), 5.78 (1H, t, J=4.7Hz), 6.67 (1H, d, J=8.0Hz), 7.18 (2H, m), 7.30 (3H, m)

実施例89 N-[N-(2S,3S)-3-トランス-カルボキシオキシラン-2-カルボニル]-L-フェニルアラニル]-3-アミノ-1-プロペン・モノナトリウム塩

化合物86 (100 mg) を実施例27と同様に、エチルエステルをアルカリ加水分解し、樹脂で脱塩後、濃縮、凍結乾燥し、標記化合物 (化合物87; 96 mg)を得た (收率 98%)。

$[\alpha]_D + 43'$ (c 0.52, H₂O, 25°C)

元素分析値 $C_{19}H_{22}N_2O_5Na \cdot 1.5H_2O$ として

計算値 C; 52.32, H; 5.49, N; 7.63

実験値 C; 52.38, H; 5.44, N; 7.81

30 1H NMR δ ppm (D₂O)

3.01 (1H, dd, J=8.6, 13.8Hz), 3.16 (1H, d, J=2.1Hz), 3.18 (1H, dd, 6.9, 13.8Hz), 3.48 (1H, d, J=2.2Hz), 3.73 (2H, dt, J=4.9, 1.6Hz), 4.61 (1H, dd, J=7.0, 8.5Hz), 5.02 (1H, dd, J=1.5, 17.2Hz), 5.07 (1H, dd, J=1.5, 10.5Hz), 5.73 (1H, d dt, J=10.3, 17.2, 5.1Hz), 7.33 (5H, m)

【0171】実施例90 N-[N-(2S,3S)-3-トランス-エトキシカルボニルオキシラン-2-カルボニル]-L-トリプトファニル]-1-アミノ-3-メチルブタン

実施例5と同様に 1-アミノ-3-メチルブタン (405 μ l)

40 と Fmoc-Trp-OH (1.35 g, ペプチド研究所製) とを縮合し N-(Fmoc-L-トリプトファニル)-1-アミノ-3-メチルブタン (1.54 g) を白色粉末として得た (收率 98%)。

この一部 (1.44 g) を実施例17と同様に Fmoc 基を脱保護後、参考例8の (2S,3S)-エチル・ハイドロゲン・トランス-エポキシスクシネット (432 mg) と縮合し、標記化合物 (化合物88; 734 mg) を白色粉末として得た (收率 72%)。

$[\alpha]_D + 31'$ (c 0.53, CHCl₃, 25°C)

元素分析値 $C_{22}H_{28}N_4O_6 \cdot 0.15CHCl_3$ として

50 計算値 C; 61.38, H; 6.78, N; 9.70

実験値 C; 61.55, H; 6.88, N; 9.78

¹H NMR δ ppm (CDCl₃)

0.81(3H, d, J=6.6Hz), 0.81(3H, d, J=6.6Hz), 1.13(2H, q, J=7.3Hz), 1.30(3H, t, J=7.2Hz), 1.37(1H, m), 3.12(3H, m), 3.16(1H, d, J=1.9Hz), 3.25(1H, ddd, J=0.6, 6.0, 14.4Hz), 3.62(1H, d, J=1.9Hz), 4.23(2H, m), 4.63(1H, dt, J=6.0, 8.1Hz), 5.50(1H, t, J=5.6Hz), 6.86(1H, d, J=7.7Hz), 7.04(1H, d, J=2.4Hz), 7.16(1H, ddd, J=1.1, 7.1, 7.8Hz), 7.23(1H, ddd, J=1.3, 7.1, 8.1Hz), 7.38(1H, dd, J=1.1, 7.8Hz), 7.67(1H, dd, J=0.9, 7.8Hz), 8.18(1H, br s)

実施例91 N-[N-[(2S,3S)-3-トランス-カルボキシオキシラン-2-カルボニル]-L-トリプトファニル]-1-アミノ-3-メチルブタン・モノナトリウム塩

化合物88 (200 mg) を実施例27と同様に、エチルエステルをアルカリ加水分解し、樹脂で脱塩後、濃縮、凍結乾燥し、標記化合物（化合物89；181 mg）を得た（收率92%）。

[α]_D + 59' (c 0.56, H₂O, 25°C)

元素分析値 C₂₂H₂₄N₂O₅Na·1.5H₂O として

計算値 C; 55.04, H; 6.24, N; 9.63, Na; 5.27

実験値 C; 55.15, H; 6.34, N; 9.71, Na; 5.37

¹H NMR δ ppm (D₂O)

0.71(6H, d, J=6.2Hz), 1.01(2H, m), 1.10(1H, m), 2.91(1H, dt, J=13.5, 6.8Hz), 3.09(1H, dt, J=13.7, 6.9Hz), 3.23(2H, d, J=7.6Hz), 3.25(1H, d, J=2.2Hz), 3.51(1H, d, J=2.0Hz), 4.57(1H, t, J=7.6Hz), 7.16(1H, ddd, J=1.1, 7.0, 7.9Hz), 7.22(1H, s), 7.24(1H, ddd, J=1.1, 7.1, 8.1Hz), 7.50(1H, d, J=8.1Hz), 7.64(1H, d, J=7.8Hz)

【0172】実施例92 N-[N-[(2S,3S)-3-トランス-エトキシカルボニルオキシラン-2-カルボニル]-3-(2-ナフチル)-L-アラニル]-1-アミノ-3-メチルブタン

実施例5と同様に1-アミノ-3-メチルブタン(128 μl)とBoc-3-(2-ナフチル)-L-アラニン(315 mg, バッケム社製、スイス)とを縮合しN-[Boc-3-(2-ナフチル)-L-アラニル]-1-アミノ-3-メチルブタン(374 mg)を白色粉末として得た（收率97%）。Boc基をトリフルオロ酢酸で脱保護後、参考例8の(2S,3S)-エチル-ヘドロ-トランス-エポキシスクシネット(153 mg)と縮合し、標記化合物（化合物90；276 mg）を白色粉末として得た（收率75%）。

[α]_D + 41' (c 0.58, CHCl₃, 25°C)

元素分析値 C₂₄H₂₆N₂O₅ として

計算値 C; 67.58, H; 7.09, N; 6.57

実験値 C; 67.34, H; 7.07, N; 6.64

¹H NMR δ ppm (CDCl₃)

0.74(3H, d, J=6.6Hz), 0.76(3H, d, J=6.6Hz), 1.13(2H, m), 1.27(3H, t, J=7.2Hz), 1.29(1H, m), 3.10(2H, m), 3.16(1H, d, J=1.8Hz), 3.19(2H, d, J=7.5Hz), 3.63(1H, d, J=1.9Hz), 4.21(2H, m), 4.63(1H, dt, J=7.8, 7.6Hz), 5.57(1H, t, J=5.5Hz), 6.86(1H, d, J=7.9Hz), 7.32(1H, dd, J=

1.7, 8.4Hz), 7.47(2H, m), 7.62(1H, br s), 7.80(3H, m)

【0173】実施例93 N-[N-[(2S,3S)-3-トランス-カルボキシオキシラン-2-カルボニル]-3-(2-ナフチル)-L-アラニル]-1-アミノ-3-メチルブタン

化合物90 (100 mg) を実施例27と同様に、エチルエステルをアルカリ加水分解し、pH 3に調整後、濃縮、析出した粉末を濾過後、乾燥し、標記化合物（化合物91；81 mg）を得た（收率87%）。

[α]_D + 65' (c 0.61, MeOH, 25°C)

10 元素分析値 C₂₂H₂₄N₂O₅·0.8H₂O として

計算値 C; 64.00, H; 6.74, N; 6.79

実験値 C; 64.00, H; 6.75, N; 6.90

¹H NMR δ ppm (CDCl₃)

0.64(3H, d, J=6.5Hz), 0.68(3H, d, J=6.6Hz), 0.99(2H, m), 1.16(1H, m), 2.94(1H, m), 3.18(3H, m), 3.52(1H, d, J=1.5Hz), 3.61(1H, d, J=1.5Hz), 4.80(1H, dt, J=7.9, 8.0Hz), 5.73(1H, br s), 6.33(1H, t, J=5.5Hz), 7.29(1H, d, J=1.5, 8.5Hz), 7.45(2H, m), 7.61(1H, br s), 7.76(3H, m), 8.26(1H, d, J=8.5Hz)

20 【0174】実施例94 主培養液の調製

ポテト・デキストロース斜面寒天培地に培養したトリコデルマ・オーレオビリデ FL-42547株を2L容坂口フ拉斯コ内のグルコース2%，可溶性澱粉3%，生大豆粉1%，コーン・スティープ・リカ-0.3%，ペプトン0.5%，食塩0.3%，炭酸カルシウム0.5%を含む500mlの種培地(pH 7.0)に接種し、28°C、48時間往復振盪機上で培養した。この培養液500mlを200リットル容ステンレス・スチール・タンク内のデキストリン5%，コーンスティープリカ-3%，

30 ポリペプトン0.5%，塩化カルシウム1%，炭酸カルシウム0.5% (pH 7.0)を含む120リットルの主培地に移植し、24°C、通気120リットル/分、攪拌180回転/分、内圧1kg/cm²の条件で5日間培養し、主培養液を得た。

【0175】実施例95 TAN-1803・一塩酸塩

実施例94で得られた培養液(225L)を濾過助剤(ラジオライト600, 昭和化学工業社製)を用いて濾過した。濾液(180L)のpHを7.0に調整後、ダイヤイオンHP-20(30L)のカラムクロマトグラフィーに付し、水(90L)で洗浄後、50% (v/v) メタノール(150L)で溶出した。溶出液を減圧下50Lまで濃縮し、アンバーライトIRC-50(H型, 14L)を充填したカラムを通過させ、水(42L)で洗浄後、1M食塩水(70L)で溶出した。溶出液のpHを7.0に調整後、ダイヤイオンHP-20(30L)のカラムクロマトグラフィーに付し、水(90L)で洗浄後、50% (v/v) メタノール/0.01M塩酸(90L)で溶出した。溶出液のpHを7.0に調整後、減圧下濃縮し、ダイヤイオンHP-20(100-200メッシュ, 500ml)のカラムクロマトグラフィーに付し、水(1.5L)で洗浄後、50% (v/v) メタノール水(1.0L)で溶出した。溶

40 流出液を減圧下50Lまで濃縮し、アンバーライトIRC-50(H型, 14L)を充填したカラムを通過させ、水(42L)で洗浄後、1M食塩水(70L)で溶出した。溶出液のpHを7.0に調整後、ダイヤイオンHP-20(30L)のカラムクロマトグラフィーに付し、水(90L)で洗浄後、50% (v/v) メタノール/0.01M塩酸(90L)で溶出した。溶出液のpHを7.0に調整後、減圧下濃縮し、ダイヤイオンHP-20(100-200メッシュ, 500ml)のカラムクロマトグラフィーに付し、水(1.5L)で洗浄後、50% (v/v) メタノール水(1.0L)で溶出した。溶

出液を濃縮し、CM-セファデックス C-25 (N₂型、200ml)を充填したカラムを通過させ、水(600ml)で洗浄後、0.05M食塩水で溶出分画した。分析用HPLCで単一ピークを与える画分を集めて、ダイヤイオン HP-20 (100-200メッシュ、150ml)を用いて脱塩した。溶出液を濃縮後、凍結乾燥してN-[N-[(2S,3S)-3-トランス-カルボキシオキシラン-2-カルボニル]-L-ロイシル]-N-(3-アミノプロピル)-1,4-ジアミノブタン (TAN-1803・一塩酸塩) (化合物92; 880mg)を得た。

1) 外観：白色粉末

2) 比旋光度：+20° (c 0.53, 0.1N 塩酸, 24°C)

3) 分子量：m/z 373 (M + H)⁺ (S I-マススペクトル)

4) 元素分析値：(%) (水分1モルとして計算)

実測値；C, 47.33; H, 8.23; N, 13.53; Cl, 9.16

計算値；C, 47.83; H, 8.26; N, 13.12; Cl, 8.30

5) 分子式：C₁₇H₂₄N₄O₆·HCl

6) UVスペクトル：水中

末端吸収

7) IRスペクトル：KBr 錠剤中、主な吸収を示す(波数, cm⁻¹)。[図13] 3430, 3260, 3060, 2960, 1630, 1470, 1390, 900, 760

8) ¹³C NMRスペクトル：75 MHz, 重水中, δ ppm, TAN-1803は重水中、2種のコンフォーマーの混合物として存在するので、主コンフォーマーのシグナルを示す。[図14] 177.1 (Q), 176.6 (Q), 172.4 (Q), 57.2 (CH), 55.6 (CH), 51.8 (CH), 50.3 (CH₂), 45.9 (CH₂), 42.5 (CH₂), 42.1 (CH₂), 39.8 (CH₂), 28.1 (CH₂), 27.9 (CH₂), 27.4 (CH), 27.0 (CH₂), 25.3 (CH₂), 23.3 (CH₂)

9) 呈色反応：陽性；ニンヒドリン、ペプタイド、リンモリブデン酸反応

陰性；坂口、エールリッヒ反応

10) 高速液体クロマトグラフィー (HPLC) :

カラム；YMC-Pack A-312, ODS

移動相；5% (V/V)アセトニトリル/0.01Mリン酸緩衝液 (pH 3.0)

流速；2.0 ml/分

検出法；214 nm

保持時間；3.9分

11) 薄層クロマトグラフィー (TLC) :

担体；シリカゲル60 F 254 (メルク社製、ドイツ)

展開溶媒(容量比)；n-ブタノール：酢酸：水 (2:1:1)

R_f 値；0.19

【0176】実施例96 N-Z-N'-[N-[(2S,3S)-3-トランス-エトキシカルボニルオキシラン-2-カルボニル]-L-ロイシル]-N'-(Z-3-アミノプロピル)-1,4-ジアミノブタン-3-アミノ-1-プロパノールおよび1,4-ジアミノブタ

ンを用い特開昭57-192347号公報記載の方法に準じて製造した、N-Z-N'-(Z-3-アミノプロピル)-1,4-ジアミノブタン (1.15 g)をDMF (30 ml)に懸濁後、氷冷下でトリエチルアミン (427 μl), Boc-L-Leu-OH·H₂O (763 mg, ペプチド研究所製), HOBT (413 mg), WSC (587 mg)を加えた後、室温で12時間攪拌した。反応液を濃縮乾固し、酢酸エチル (200 ml)を加え、10%クエン酸水、2%炭酸水素ナトリウム水、飽和食塩水でそれぞれ洗浄後、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。さらに、シリカゲルカラムクロマトグラフィー [キーゼルゲル (Kieselgel) 60, イー・メルク (E. Merck) 社製、独, 120 ml]に付し、ヘキサン中酢酸エチルを順次添加した溶離液で溶出し、50~60% (V/V)酢酸エチル溶出画分より、N-(Boc-L-ロイシル)-N-(Z-3-アミノプロピル)-N'-Z-1,4-ジアミノブタン (1.40 g)を得た(収率81%)。得られた化合物 (1.38 g)に、TFA (14 ml)を加え、1時間放置した。反応液に酢酸エチル (200 ml)を加え、2%炭酸水素ナトリウム水、飽和食塩水で順次洗浄した。無水硫酸ナトリウムで乾燥後、濃縮乾固してN-(L-ロイシル)-N-(Z-3-アミノプロピル)-N'-Z-1,4-ジアミノブタン (1.09 g)を得た(収率94%)。この化合物 (1.06 g)をジクロロメタン (30 ml)に溶解後、氷冷下、参考例8の (2S,3S)-エチル・ハイドロゲン・トランス-エポキシスクシネット (356 mg), HOBT (300 mg), WSC (426 mg)を加え、室温で14時間攪拌した。反応液を濃縮乾固し、酢酸エチルを加え、10%クエン酸水、2%炭酸水素ナトリウム水、飽和食塩水で順次洗浄後、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。さらに、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (60 ml)に付し、ヘキサン中酢酸エチルを順次添加した溶離液で溶出し、6.5% (v/v) 酢酸エチル溶出画分から標記化合物 (化合物93; 601 mg)を得た(収率45%)。

〔α〕_D²⁵ +18' (c 0.50, クロロホルム)

元素分析値 C₂₈H₄₆N₄O₆·H₂O として

計算値 C; 61.21, H; 7.34, N; 8.16

実験値 C; 61.42, H; 7.20, N; 7.99

¹H NMR δ ppm (DMSO-d₆)、化合物3はDMSO-d₆中、2種のコンフォーマーの混合物として存在する。

0.87 (6H, m), 1.23 (3H, t × 2本, J=7.0Hz), 1.23 - 1.85 (9H, m), 2.90 - 3.40 (8H, m), 3.59 (1H, d, J=2.0Hz), 3.71 (1H, d × 2本, J=2.0Hz), 4.17 (2H, m), 4.69 (1H, m), 5.00 (4H, s), 7.15 - 7.40 (12H, m), 8.75 (1H, d × 2本, J=7.0Hz)

【0177】実施例97 N-Z-N'-[N-[(2S,3S)-3-トランス-カルボキシオキシラン-2-カルボニル]-L-ロイシル]-N'-(Z-3-アミノプロピル)-1,4-ジアミノブタン 化合物93 (476 mg)をメタノール (30 ml)に溶解後、氷冷下 1N 水酸化ナトリウム水 (784 μl)を加え、室温で1.5時間攪拌した。反応液に、1N 塩酸 (140 μl)を加え濃縮後、水 (50 ml)を加えた。水溶液のpHを2.5に調整後、酢酸エチル (50 ml)で3回抽出した。有機溶

媒層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、濃縮乾固して標記化合物(化合物94; 450 mg)を得た(收率99%)。

【 α 】 $^{25} +25'$ (c 0.51, メタノール)

元素分析値 $C_{18}H_{24}N_2O_4 \cdot 0.5H_2O$ として

計算値 C; 61.00, H; 6.98, N; 8.62

実験値 C; 61.15, H; 6.96, N; 8.67

1H NMR δ ppm (DMSO-d₆), 化合物94はDMSO-d₆中, 2種のコンフォーマーの混合物として存在する。0.87 (6H, m), 1.20 - 1.85 (9H, m), 2.87 - 3.60 (8H, m), 3.44 (1H, d, $J=2.0$ Hz), 3.64 (1H, d \times 2本, $J=2.0$ Hz), 4.70 (1H, m), 5.00 (4H, s), 7.15 - 7.40 (12H, m), 8.69 (1H, d \times 2本, $J=6.0$ Hz)

【0178】実施例98 TAN-1803・一塩酸塩化合物94 (343 mg)をメタノール(8 ml)に溶解後、水(4 ml), 酢酸(31 μ l), 10% (W/W)パラジウム活性炭素(34 mg)を加え、室温水素雰囲気下1.5時間攪拌した。触媒を濾去し、濾液を濃縮後、分取HPLC【カ*

TAN-1756A

乳糖

コーンスター

ステアリン酸マグネシウム

合計

30 mg

100 mg

40 mg

10 mg

180 mg

【0180】製剤例2

実施例95により得られたTAN-1803・一塩酸塩を用いて、下記に示す処方の全成分を混和し、ゼラチンカプセルに充填し、カプセル1個当たり、30mgのTAN-1803・一塩酸塩を含有するカプセル剤を製造した。

TAN-1803・一塩酸塩	30 mg
乳糖	100 mg
コーンスター	40 mg
ステアリン酸マグネシウム	10 mg
合計	180 mg

【0181】

【発明の効果】化合物(I), (XI)および(XXI)またはそれらの塩は、カテプシンLおよびカテプシンB等のチオールプロテアーゼに対する阻害作用を有し、チオールプロテアーゼに由来する疾患(例、筋ジストロフィー症、空胞型ジスタールミオパチー等)の予防および治療剤として有用なチオールプロテアーゼ阻害剤として用いられる。また、チオールプロテアーゼを阻害する物質は抗炎症作用を有するので、本発明のチオールプロテアーゼ阻害剤は、抗炎症剤としても用いられる。さらに、化合物(I), (XI)および(XXI)またはそれらの塩は、骨吸収抑制作用を有し、骨粗鬆症、悪性高カルシウム血症、ページェット病等の骨疾患の予防および治療剤として用いられる。

【図面の簡単な説明】

【図1】TAN-1756AのIRスペクトル

114

* ラム; YMC-Pack, D-ODS-5 (S-5 120A), 移動相; 2% (V/V)アセトニトリル/0.01Mリン酸緩衝液 (pH 6.3), 流速; 10 ml/分]に付した。分析用HPLCでTAN-1803の単一ピークを与える画分を集め、アンバーライトIRA-402 (C1型, 100ml)を充填したカラムを通過させ、水(100ml)で洗浄した。通過液と水洗液を合わせ濃縮後、ダイヤイオンHP-20 (100 - 200 メッシュ, 80ml)を用いて脱塩した。溶出液を濃縮後、凍結乾燥してTAN-1803・一塩酸塩

10 (化合物92; 107 mg)を得た(收率49%)。得られた化合物の物理化学的データは、培養液より得られた化合物の物理化学的データと一致した。

【0179】製剤例1

実施例7によって得たTAN-1756Aを用いて、下記に示す処方の全成分を混和し、ゼラチンカプセルに充填し、カプセル1個当たり、30 mgのTAN-1756Aを含有するカプセル剤を製造した。

30 mg

100 mg

40 mg

10 mg

180 mg

※【図2】TAN-1756Aの¹³C-NMRスペクトル

【図3】TAN-1756BのIRスペクトル

【図4】TAN-1756Bの¹³C-NMRスペクトル

【図5】TAN-1854A・一塩酸塩のIRスペクトル

【図6】TAN-1854A・一塩酸塩の¹³C-NMRスペクトル

30 スペクトル

【図7】TAN-1854B・一塩酸塩のIRスペクトル

【図8】TAN-1854B・一塩酸塩の¹³C-NMRスペクトル

【図9】TAN-1756C・1/2硫酸塩のIRスペクトル

【図10】TAN-1756C・1/2硫酸塩の¹³C-NMRスペクトル

【図11】TAN-1756D・1/2硫酸塩のIRスペクトル

40 【図12】TAN-1756D・1/2硫酸塩の¹³C-NMRスペクトル

【図13】TAN-1803・一塩酸塩のIRスペクトル

【図14】TAN-1803・一塩酸塩の¹³C-NMRスペクトル

【図15】TAN-1868・モノナトリウム塩のIRスペクトル

【図16】TAN-1868・モノナトリウム塩の¹³C-NMRスペクトル

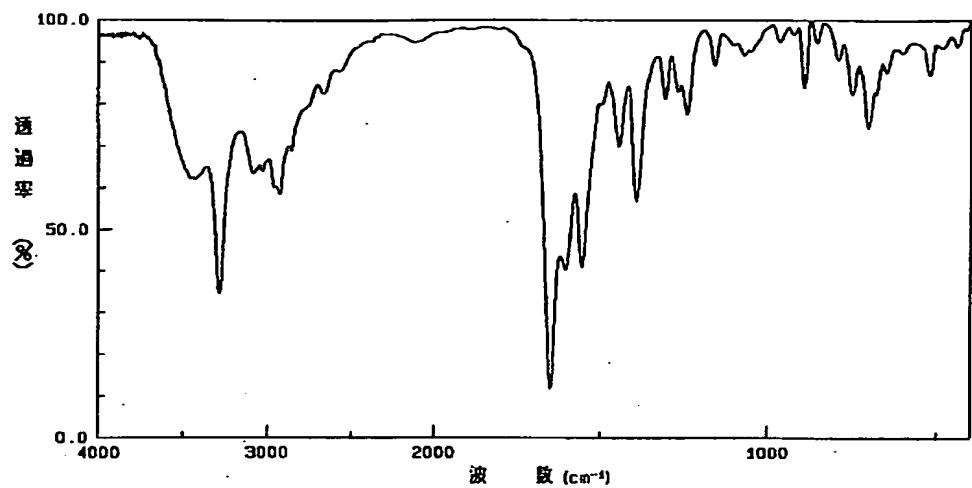
115

【符号の説明】

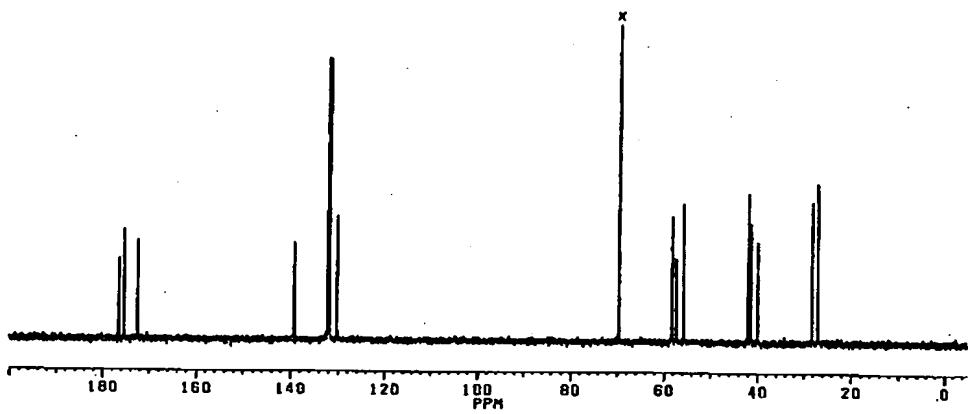
116

×はジオキサンの吸収を示す。

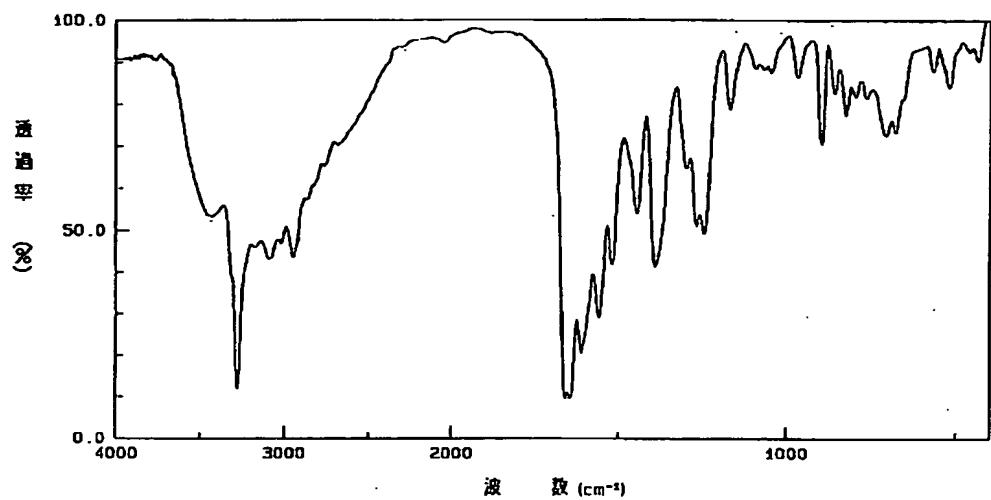
【図1】



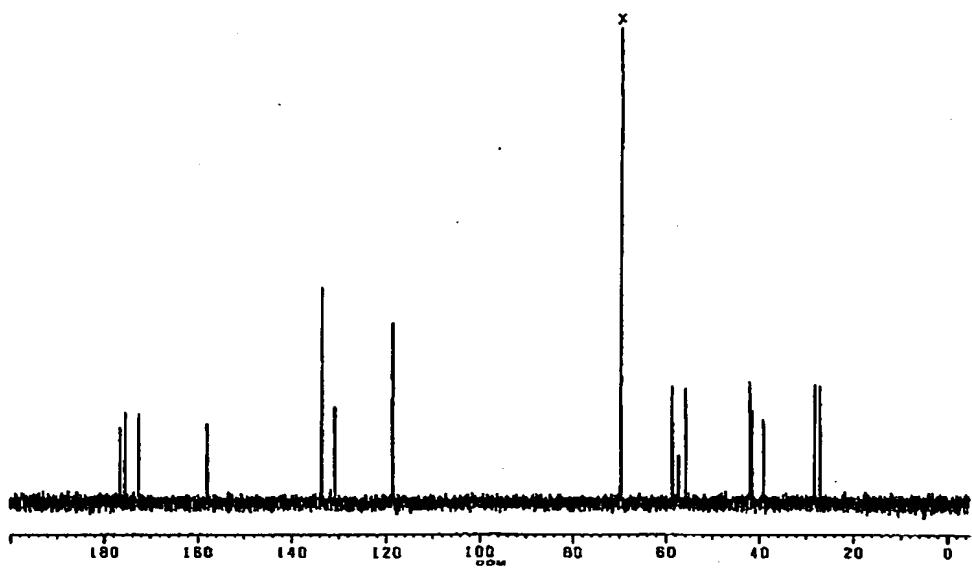
【図2】



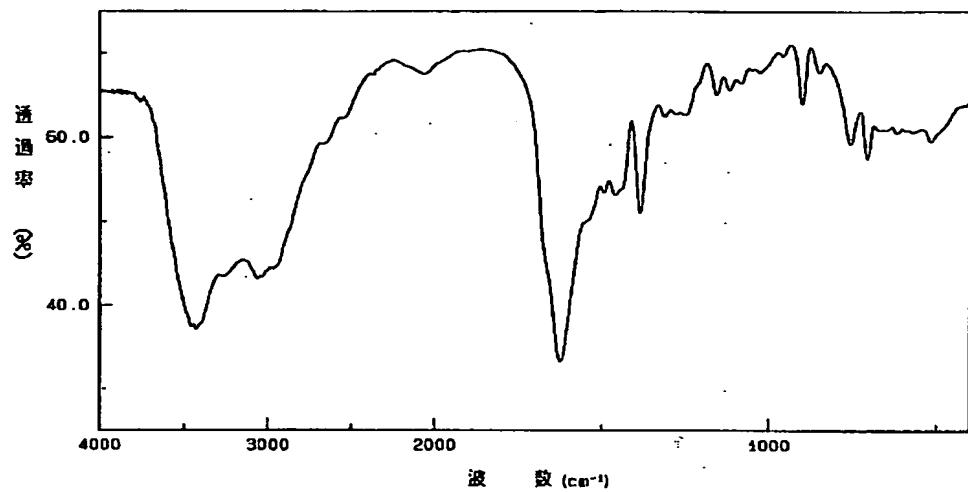
【図3】



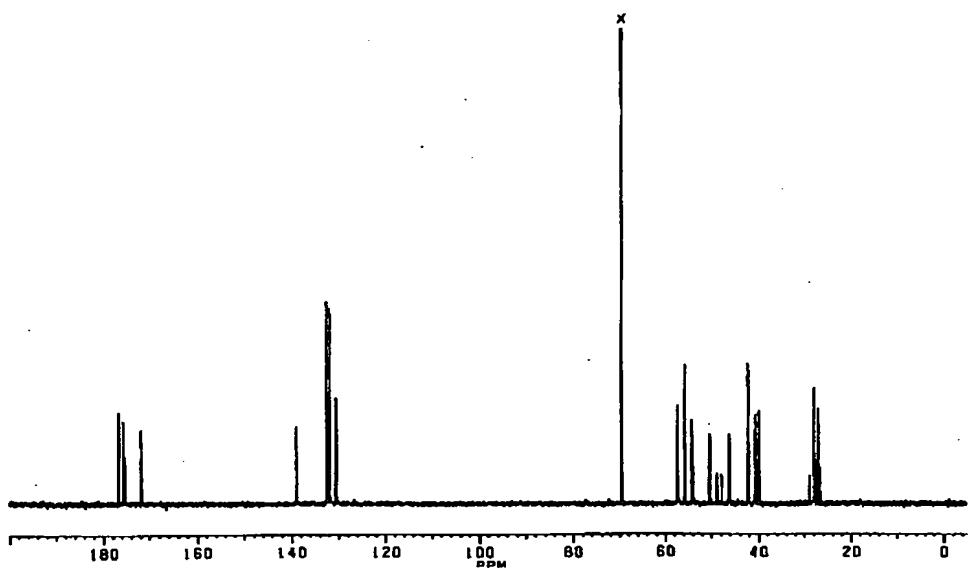
【図4】



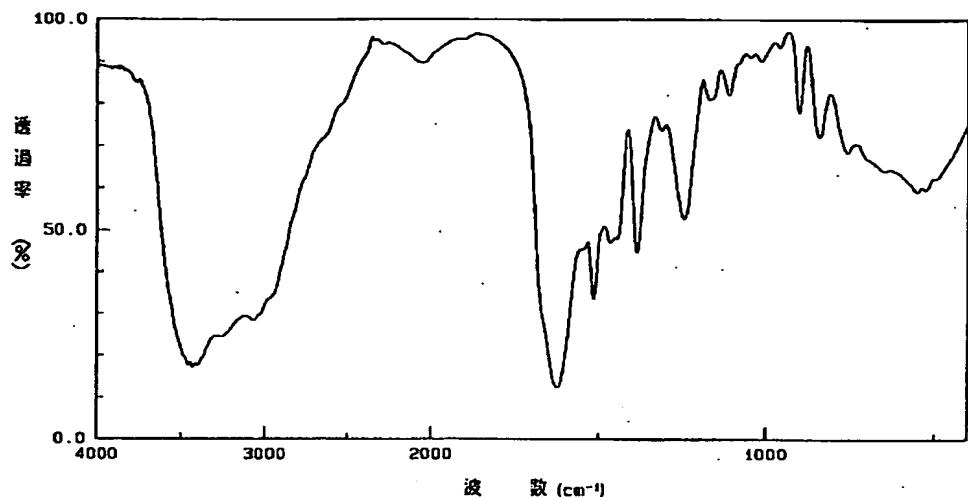
【図5】



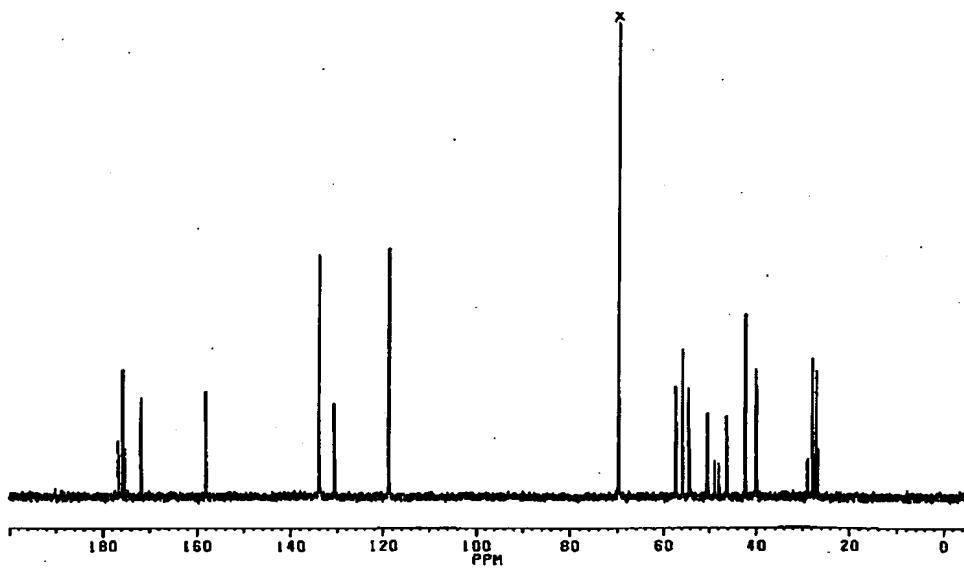
【図6】



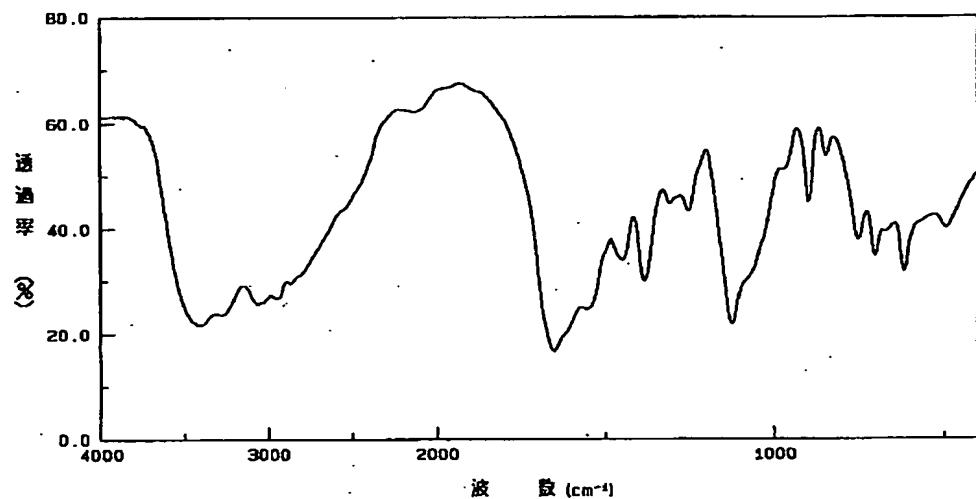
【図7】



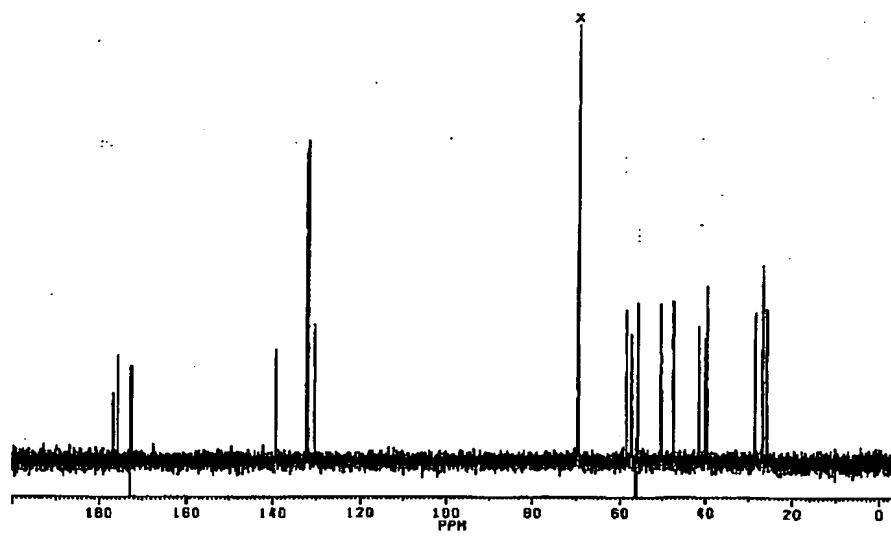
【図8】



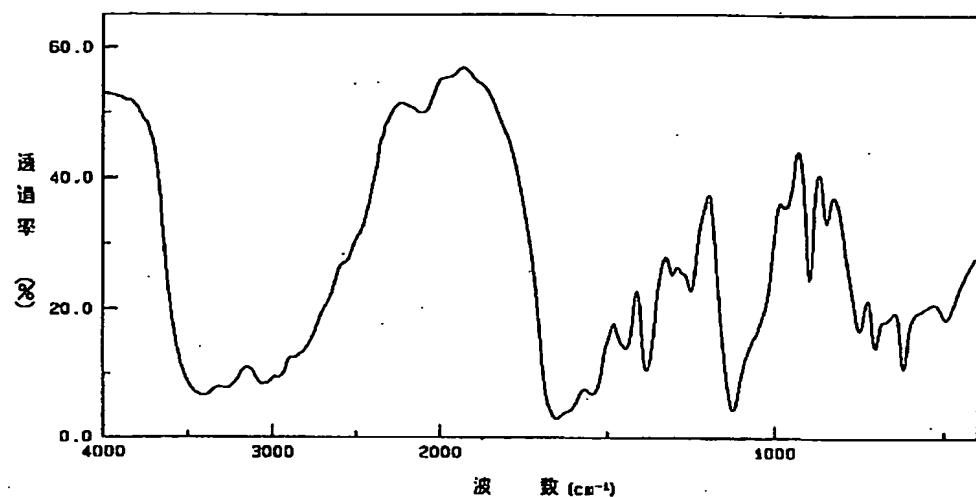
【図9】



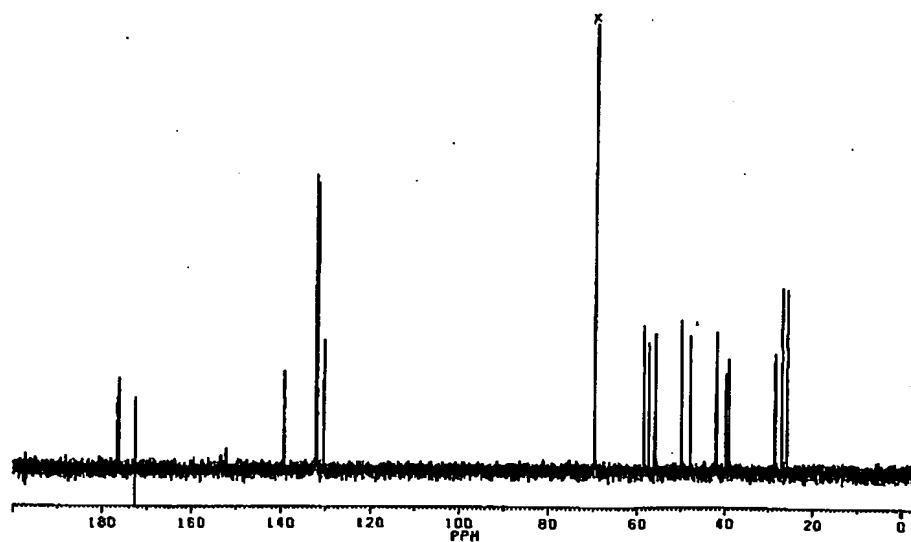
【図10】



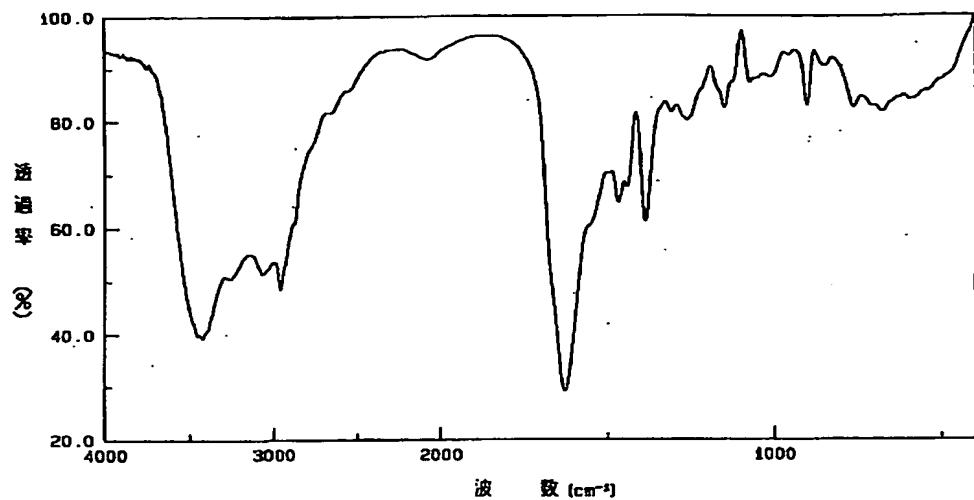
【図11】



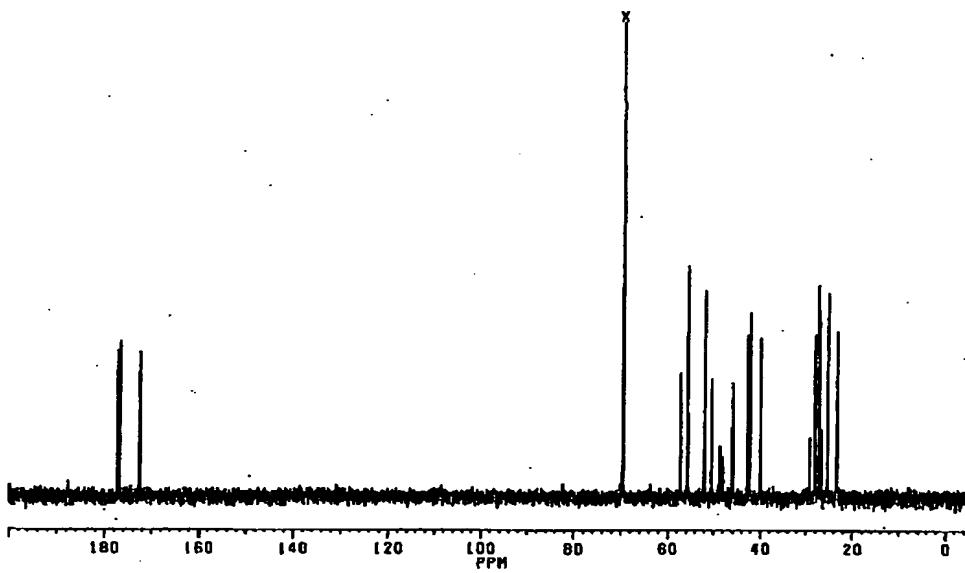
【図12】



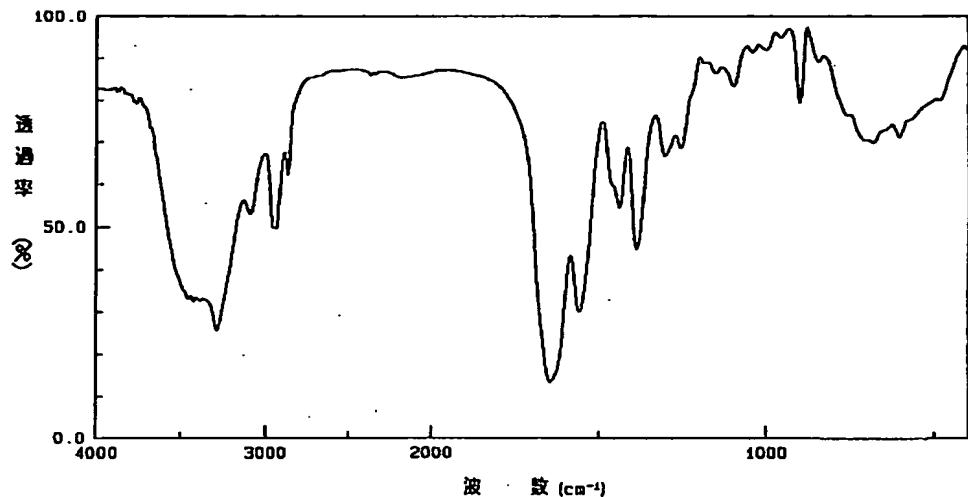
【図13】



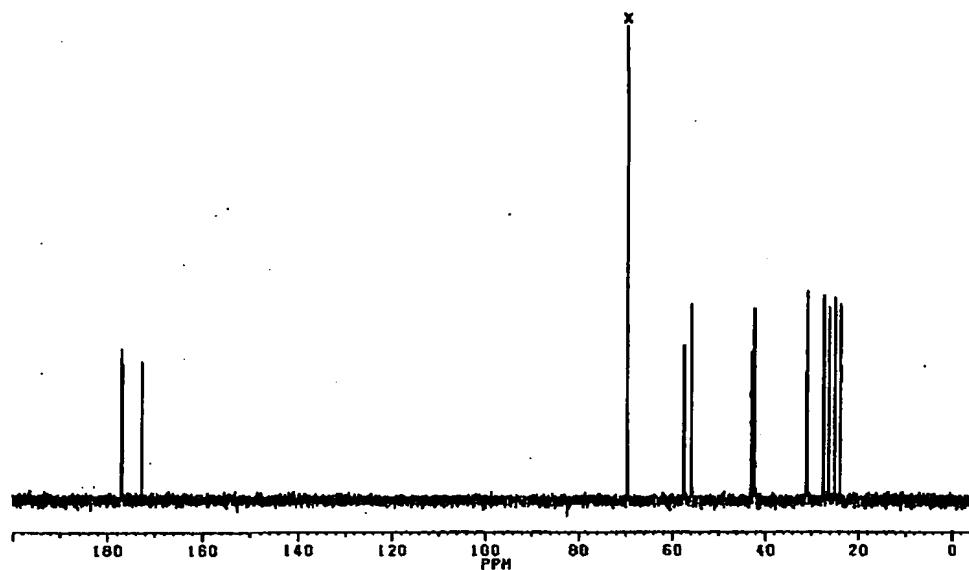
【図14】



【図15】



【図16】



フロントページの続き

(51) Int.Cl. ⁶ 識別記号 庁内整理番号 F I 技術表示箇所
 (C 1 2 P 17/02
 C 1 2 R 1:645)

(72) 発明者 藤沢 幸夫
 兵庫県神戸市東灘区御影中町4丁目1番31
 -104号